

# **Untersuchungen zu Biomaterialien und Biomineralien auf der Basis von Nickel-Titan-Legierungen und Calciumphosphaten**

**Dissertation**

Zur Erlangung des Doktorgrades Dr. rer. nat.  
des Fachbereichs Chemie der Universität Duisburg-Essen

vorgelegt von

Oleg Prymak

aus Kharkiv

Essen 2005

**Institut für Anorganische Chemie  
der Universität Duisburg-Essen**

Für meine Frau Viktoriya

Ich danke meinen Eltern, meiner kleinen Schwester und meinen Schwiegereltern, die immer für mich da waren, obwohl meist große Entfernungen zwischen uns lagen.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. M. Epple für die Möglichkeit vorliegende Arbeit durchzuführen, die fruchtbare Zusammenarbeit und mir entgegengebrachte Freundlichkeit. Ebenfalls dankbar bin ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die großzügige Förderung meiner Arbeit im Rahmen des SFB 459 „Formgedächtnistechnik“.

Außerdem möchte ich allen danken, die mich bei der Durchführung der Arbeit unterstützt haben, besonders meinem Freund Thorsten Peitsch.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juli 2002 bis September 2004 am Lehrstuhl für Anorganische Chemie I, Arbeitskreis Prof. Dr. Matthias Eppe (Festkörperchemie), an der Ruhr-Universität Bochum und in der Zeit von Oktober 2004 bis Juli 2005 am Institut für Anorganische Chemie, Arbeitskreis Prof. Dr. Matthias Eppe, an der Universität Duisburg-Essen angefertigt.

1. Gutachter:	Prof. Dr. M. Eppe
2. Gutachter:	Prof. Dr. M. Ulbricht
ext. Gutachter:	Prof. Dr. P. Behrens
Tag der mündlichen Prüfung:	27.09.2005

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung und theoretische Hintergrund .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Zielsetzung der Arbeit .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2 Kristallisation .....</b>	<b>7</b>
<b>1.3 Calciumphosphate .....</b>	<b>9</b>
<b>1.4 Menschliche Hartgewebe .....</b>	<b>16</b>
1.4.1 Knochen .....	16
1.4.2 Zähne .....	24
<b>1.5 Reaktionen des Organismus auf Fremdkörper .....</b>	<b>26</b>
1.5.1 Blutzellen .....	26
1.5.2 Einbringung von Biomaterialien in den Körper .....	28
<b>1.6 Unterschiedliche Implantatmaterialien.....</b>	<b>32</b>
1.6.1 Knochenersatzmaterialien im Allgemeinen .....	32
1.6.2 Historische Entwicklung von metallischen Implantatwerkstoffen.....	35
1.6.3 Titan .....	36
1.6.4 NiTi .....	38
1.6.5 Poröses NiTi .....	44
1.6.6 Metallische Implantate mit Calciumphosphatbeschichtungen .....	44
1.6.7 Verschiedene Beschichtungsmethoden .....	45
<b>1.7 In dieser Arbeit untersuchte Implantate für verschiedene Einsatzgebiete.....</b>	<b>49</b>
1.7.1 Fußklammern nach der MIM-Methode .....	49
1.7.2 Poröses NiTi nach dem SHS-Verfahren.....	50
1.7.3 Orthodontische Drähte .....	51
<b>1.8 Verwendete Kristallisationszusätze .....</b>	<b>53</b>
1.8.1 Antibiotika.....	53
1.8.2 Proteine.....	55
1.8.3 Polypeptide.....	55
1.8.4 Tenside (CTAB, SDS, Triton).....	56
<b>2. Experimentelle Durchführung und Ergebnisse.....</b>	<b>58</b>
<b>2.1 HAP-Beschichtung aus der Lösung .....</b>	<b>58</b>
2.1.1 Vorbereitung und chemische Bearbeitung der Proben.....	60
2.1.2 Durchführung der Beschichtung (Tauchprozess).....	61
2.1.3 Analysen und Stabilitätstests der Beschichtung.....	63
2.1.4 Biologische Untersuchungen.....	67
2.1.5 Nickelfreisetzung aus beschichteten und unbeschichteten NiTi-Plättchen.....	70
2.1.6 Cokristallisation mit Linezolid und Freisetzung .....	73
2.1.7 Aufbringung von BMP-4 auf Calciumphosphat und Freisetzung.....	83
2.1.8 Beschichtung von Stahlproben.....	86
2.1.9 Zusammenfassung .....	88
<b>2.2 FAP-Kristallisation aus der Lösung .....</b>	<b>89</b>
2.2.1 Experimentelle Durchführung .....	89
2.2.2 Die verschiedenen Morphologien des FAP .....	91
2.2.2.1 Die verschiedenen Morphologien des FAP auf Titan .....	91
2.2.2.2 Die verschiedenen Morphologien des FAP auf Polymer .....	95
2.2.3 Einfluss der Kristallisationskeimen auf die weitere Kristallisation .....	98
2.2.4 Einfluss der Übersättigung und der Ionenstärke .....	103
2.2.5 Morphologien bei pH 7 .....	110
2.2.6 Erhöhung der Anionenkonzentration (Vergleich mit der Diffusionsmethode).....	113



2.2.7 Hantelstruktur (Wachstum in Abhängigkeit von Zeit und Übersättigung) .....	121
2.2.7.1 Hantelwachstum auf Titan (pH 6) .....	121
2.2.7.2 Hantelwachstum auf Polymer (pH 6 und pH 5) .....	123
2.2.8 Einfluss der Ionenstärke auf das Hantelwachstum .....	129
2.2.9 Einfluss von Tensiden und Polyelektrolyten auf das Hantelwachstum .....	132
2.2.10 Zusammenfassung .....	140
<b>2.3 Untersuchungen von HAP-Beschichtungen nach dem Plasmaspray-Verfahren . 141</b>	
2.3.1 Beschichtungseigenschaften und Oberflächenuntersuchung mittels REM und EDX .....	142
2.3.2 XRD- und Infrarot-Analysen .....	144
2.3.3 DSC-Analysen .....	145
2.3.4 Biologische Untersuchungen .....	146
2.3.5 Zusammenfassung .....	148
<b>2.4 Untersuchungen an porösem NiTi .....</b>	<b>149</b>
2.4.1 Untersuchungen mittels REM und EDX .....	149
2.4.2 Mikrotomographische Untersuchungen .....	150
2.4.3 DSC- und XRD-Analyse .....	151
2.4.4 DMA-Analyse .....	153
2.4.5 Calciumphosphatbeschichtung von porösen Proben .....	154
2.4.6 Zusammenfassung .....	156
<b>2.5 Untersuchungen von NiTi-Fußklammern .....</b>	<b>157</b>
2.5.1 Untersuchung mittels REM und EDX .....	157
2.5.2 DSC- und DMA-Analysen .....	158
2.5.3 Ergebnisse der Kooperationspartner .....	161
<b>2.6 Untersuchung von orthodontischen Drähten .....</b>	<b>163</b>
2.6.1 Verschiedene Drahtmaterialien .....	163
2.6.2 Vergleich mittels REM-, EDX- und DSC-Analyse .....	164
2.6.3 Ermüdungstests in verschiedenen Medien mittels DMA .....	166
2.6.4 Einfluss der Oberflächennitridierung auf die mechanische Eigenschaften der Drähte .....	172
2.6.5 Nickelfreisetzung aus orthodontischen Drähten .....	176
2.6.6 Zusammenfassung .....	180
<b>2.7 Mikrotomographische Untersuchungen an biologischen Proben .....</b>	<b>181</b>
2.7.1 Schneckengehäuse .....	181
2.7.2 Rhopalien .....	185
2.7.3 Zähne .....	188
2.7.4 Zusammenfassung .....	190
<b>3. Theoretische Grundlagen der Untersuchungsmethoden .....</b>	<b>192</b>
3.1 XRD (Röntgenpulverdiffraktometrie) .....	192
3.2 IR (Infrarot-Spektroskopie) .....	193
3.3 REM (Raster-Elektronen-Mikroskopie) .....	194
3.4 EDX (Energiedispersive Röntgenspektroskopie) .....	194
3.5 Mikrocomputertomographie (DESY Hamburg) .....	195
3.6 DMA (Dynamisch-Mechanische-Analyse) .....	196
3.7 DSC (Differential Scanning Calometry) .....	197
3.8 AAS (Atom-Absorptions-Spektroskopie) .....	197
3.9 Biologische Untersuchungen .....	198
<b>4. Zusammenfassung .....</b>	<b>199</b>

<b>5. Literatur .....</b>	<b>201</b>
<b>6. Verzeichnisse.....</b>	<b>209</b>
6.1 Gefahrstoffe und Entsorgung .....	209
6.2 Veröffentlichungen.....	210
6.3 Poster und Vorträge.....	211
6.4 Lebenslauf .....	214

# 1. Einleitung und theoretische Hintergrund

## 1.1 Zielsetzung der Arbeit

Ein Hauptanliegen in der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung von metallischen Biomaterialien bzw. Implantaten (Fußklammern, orthodontische Drähte, poröses Nitinol®) auf verschiedenen Wegen, um ein möglichst umfassendes Bild von ihren mechanischen, chemischen und biologischen Eigenschaften zu gewinnen. Dazu war die interdisziplinäre Zusammenarbeit mit anderen wissenschaftlichen Fachrichtungen wie Medizin, Biologie, Ingenieurwissenschaften und Physik notwendig. Die Ergebnisse sollten dazu beitragen, dass in Zukunft für bestimmte medizinische Anwendungen das dafür am besten geeignete Implantatmaterial gewählt wird.

Zusätzlich wurde versucht, Eigenschaften vorhandener Materialien zu verbessern, weshalb Calciumphosphatbeschichtungen auf Proben aus Titan und Nitinol® aufgebracht und untersucht wurden. Diese Beschichtungen sollten bei klinischer Anwendung zu einer guten Implantatfixierung durch Anwachsen von Knochen führen. Dazu wurden Beschichtungen auf unterschiedliche Arten verglichen, die nach zwei verschiedenen Methoden hergestellt wurden: Dem konventionellen Plasmaspray-Verfahren und dem selbst durchgeführten *dip-coating*-Verfahren. Beim *dip-coating*-Verfahren bestand außerdem die Möglichkeit, Wirkstoffe in die Calciumphosphatbeschichtung einzubringen und damit deren Bioaktivität weiter zu erhöhen. Zum Verständnis von für das Knochenwachstum wichtigen Biomineralisationsprozessen wurde die Kristallisation der Calciumphosphate Hydroxylapatit (Knochenmineral) und Fluorapatit (Modellsystem) genauer untersucht. Dazu wurden die Kristallisationsbedingungen der verwendeten Calciumphosphatlösung wie pH-Wert, Ionenkonzentration, Kristallisationszeit und Zusätze variiert und für einige spezielle Morphologien Wachstumsmodelle erstellt.

Außerdem wurden mikrocomputertomographische Untersuchungen an Biomineralisation wie Schneckenachsen durchgeführt, um Informationen über Biomineralisation im Allgemeinen zu erhalten und um die morphologische Klassifizierung bestimmter Biomineralien zu ermöglichen.

Die genannten Arbeitsgebiete sind in den jeweiligen Kapiteln beschrieben, zum Verständnis einiger Hintergründe wurden ausführliche theoretische Grundlagen vorangestellt.

## 1.2 Kristallisation

Um die Hauptthemen dieser Arbeit, Biomineralien allgemein und Calciumphosphate, verstehen zu können, ist es nötig, grundlegende Begriffe und Mechanismen wie Kristallisation bzw. Biomineralisation zu beschreiben.

Unter Kristallisation versteht man das Ausfällen einer kristallinen Substanz aus einer übersättigten Lösung. Diese Fällung oder Präzipitation kann jedoch auch zuerst zu einem amorphen Produkt führen, welches sich später in einen Kristall umwandelt. Zur Bildung eines Festkörpers müssen sich Ionen aus der Lösung zusammenlagern und ein Aggregat bilden, welches kein Lösungsmittel mehr enthält, außer wenn dieses in die Struktur eingebaut ist (Kristallwasser).

Die Kristallisation aus übersättigter Lösung, bei der Energie frei wird, benötigt zur Kristallkeimbildung eine Aktivierungsenergie. Wird diese nicht erreicht, fällt auch bei Überschreitung des Löslichkeitsprodukts nichts aus, die Lösung metastabil. Bei Überschreitung der Aktivierungsbarriere (Abkühlen, Erhöhen der Ionenkonzentration) entstehen erste mikroskopische Kristalle, was als Nukleation bezeichnet wird. Durch Kristallwachstum erreichen diese Keime makroskopische Ausmaße. Nicht jeder Keim wächst zu einem Kristall heran, da kleine Kristalle im Vergleich zu großen eine höhere Löslichkeit besitzen und sich auf Kosten von größeren Aggregaten auflösen können, solange sie nicht eine gewisse kritische Größe erreicht haben. Diese freiwillig ablaufende Kristallisation ohne bereits vorhandene Festphase wird *homogene* Keimbildung genannt. Im Gegensatz dazu existiert auch die *heterogene* Keimbildung<sup>[1]</sup>, bei der die Aktivierungsenergie zur Keimbildung durch Zugabe von Impfkristallen oder anderen Fremdkörperoberflächen (z. B. Gefäßwänden) unterlaufen wird. Die Ionen können sich ohne zuerst selbst Keime zu müssen an die Oberfläche anlagern. Unter sekundärer Keimbildung sind Effekte wie Staubimpfung, Bruchstückbildung, Kollisionskeimbildung und andere zusammengefasst, die zu weiterer heterogener Keimbildung führen<sup>[2]</sup>.

Zum Kristallwachstum müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein. Die Ionenkonzentration an der Oberfläche muss durch Diffusion und Konvektion ausreichend hoch gehalten werden. Die Ionen müssen die Möglichkeit haben, an die Oberfläche zu adsorbieren und an eine zur Abscheidung günstige Stelle (Kante, Ecke, Defekt) zu wandern<sup>[3]</sup>. Dann müssen die Ionen sich an der vorhandenen Struktur orientieren und in diese integriert werden.

Dadurch entstehen Vorzugsrichtungen für das Kristallwachstum, z. B. entlang einer geraden oder schraubenförmigen Versetzung, die neben der Elementarzelle des Kristalls (kleinste strukturelle Einheit) einen Einfluss auf die entstehende Morphologie ausüben.

Es lassen sich prinzipiell drei unterschiedliche Arten der Kristallisation unterscheiden:

Die *geologische* Kristallisation tritt in der Natur in Schmelzen und Festkörperreaktionen auf. Sie läuft üblicherweise in langen Zeiträumen ab, weshalb große, hochgeordnete und daher harte Kristalle über oder unter der Erdoberfläche entstehen können. Dort treten zum Teil beträchtliche Drücke auf, wodurch Variationen von Kristallphasen mit gleicher Stöchiometrie entstehen können. Allgemein sind nur wenige in der Natur vorkommende Mineralien Einkristalle; oft sind einzelne Ionen durch ihnen ähnliche Fremdionen, z. B. aus der gleichen Hauptgruppe stammende, substituiert. Auch Kristallbaufehler wie Punktdefekte, Versetzungen oder Risse und Einschlüsse treten bei natürlich vorkommenden Mineralien häufig auf und sind auch bei künstlicher Herstellung nie ganz auszuschließen.

Mit *biologischer* Kristallisation, auch Biomineralisation<sup>[4]</sup> genannt, wird die Bildung von anorganischen Mineralien durch lebende Organismen bezeichnet. Biomineralisation läuft üblicherweise schneller ab als die geologische Mineralisation, ist im Vergleich zu chemischer Kristallisation jedoch als langsam zu bezeichnen. Die dabei entstehenden Biomineralien bestehen aus kleinen, hochgeordneten Kristallen, die ebenfalls Fremdionen und strukturelle Defekte aufweisen. Es sind heute über 60 von verschiedenen Spezies generierte Biomineralien bekannt, von denen die Calciumphosphate (Knochen- und Zahnschmelze der Wirbeltiere) mengenmäßig nur einen geringen Prozentsatz ausmachen, da Calciumcarbonate und Kieselsäure in riesigen Mengen von marinen Einzellern gebildet werden. Zu den Biomineralien, die meistens schützende, stützende oder Werkzeug-Funktionen übernehmen<sup>[5]</sup>, gehören die häufig vorkommenden Knochen, Schalen und Zähne sowie einige besondere Strukturen wie Statolithen, die in Quallen einen Schwerkraftsensor erzeugen und Eisenoxide in den Zähnen von Schnecken.

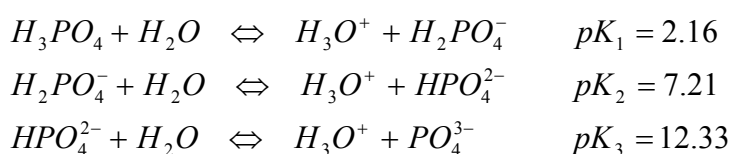
Die *chemische* Kristallisation wird im Labor üblicherweise durch Fällungen aus übersättigten Lösungen durchgeführt. Dabei können Bedingungen wie Temperatur, Druck, Kristallisationszeit und Ionenkonzentration so variiert werden, dass verschiedene Kristallphasen zugänglich sind. Da die Kristallisationszeit vergleichsweise kurz ist, sind die entstehenden Kristalle klein und reich an Defekten, der Einbau von Fremdionen kann durch Einsatz von Reinstchemikalien jedoch minimiert werden.

### 1.3 Calciumphosphate

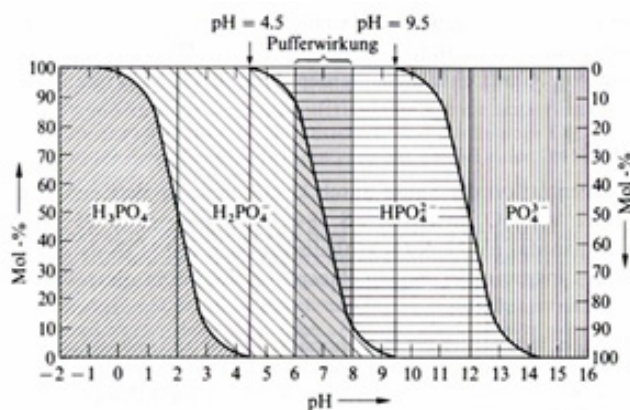
Da Knochen und Zähne der Wirbeltiere aus Calciumphosphaten aufgebaut sind und Störungen in deren Aufbau zu vielerlei Problemen führen können<sup>[6-8]</sup>, ist ein umfassendes Verständnis der Kristallisationsmechanismen und Einsatzgebiete der einzelnen Kristallphasen von hoher Bedeutung für die Medizin und Gegenstand vielfältiger Forschung. Viele heute verwendete Biomaterialien mit hoher Biokompatibilität bestehen aufgrund der umfassenden Präsenz von Calciumphosphat im menschlichen Körper eben aus diesem Material oder sind zumindest damit überzogen.

Alle Calciumphosphate sind in reinem Zustand weiße, schwer wasserlösliche aber säurelösliche Festkörper, die in der Natur jedoch häufig durch Übergangsmetallionen eingefärbt sind. Obwohl auch Kombinationen von Calcium mit pyro- ( $P_2O_7^{4-}$ ) und poly- ( $(PO_3)_n^{n-}$ ) Phosphaten existieren, soll in dieser Beschreibung nur auf die Calciumsalze der ortho-Phosphorsäure eingegangen werden, da nur diese von medizinischer Bedeutung sind (abgesehen von wenigen Ausnahmen, z.B. Calciumpyrophosphat in pathologischen Verkalkungen). Geologisch betrachtet sind Calciumphosphate weit verbreitete Mineralien, wichtige Lagerstätten von Fluorapatit liegen beispielsweise in den USA, Russland und Marokko<sup>[9-11]</sup>.

Die Existenz der großen Anzahl von verschiedenen Calciumphosphatsalzen der ortho-Phosphorsäure kann mit der Kombination des Calciums mit den drei Protolysestufen (Dihydrogenphosphat, Hydrogenphosphat und Phosphat) erklärt werden.



Die Säurekonstanten beziehen sich hierbei auf Standardbedingungen.



**Abbildung 1.3.1** Abhängigkeit der Ionenkonzentration vom pH-Wert bei Phosphorsäure

In obigem Diagramm sind die Protolysestufen der Phosphorsäure abhängig von Konzentration und pH-Wert dargestellt<sup>[12]</sup>. Anhand dieser Zusammenhänge wurden für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Kristallisationen von Calciumphosphaten bei einem bestimmten pH-Wert Berechnungen zu Ionenkonzentration und daraus zu Ionenstärken und Übersättigungen ausgeführt (siehe Kapitel 2.2.4).

Die Löslichkeit der aus den verschiedenen Protolysestufen resultierenden Calciumphosphate nimmt mit abnehmendem pH-Wert aufgrund der Protonierung der in Lösung gehenden Phosphationen zu. Dazu kommt, dass mit steigendem stöchiometrischem Verhältnis von Calcium zu Phosphat die Löslichkeit sinkt<sup>[13]</sup>. Daher ist der Hydroxylapatit, der nur Phosphat enthält, auch das am schwersten wasserlösliche Calciumphosphatmineral.

Auch inhibierende Wirkungen auf die Bildung von Calciumphosphaten sind möglich, z. B die Gegenwart von  $Mg^{2+}$ ,  $CO_3^{2-}$  und anderen<sup>[14]</sup>.

Die biologisch relevanten Calciumphosphate der ortho-Phosphorsäure sind mit ihren im weiteren verwendeten Abkürzungen in folgender Tabelle dargestellt. Von den dort aufgeführten Calciumphosphaten sind  $\alpha$ - und  $\beta$ -TCPs sowie TTCP nur durch Festkörperreaktionen herstellbar; alle anderen können aus wässriger Lösung gefällt werden, wobei der pH-Wert eine entscheidende Rolle spielt (siehe Tabelle 1.3.1).

CaP-Verbindung	Abkürzung	Formel	Ca/P-Verhält.	Löslichkeit bei 25 °C
Monocalciumphosphat-Monohydrat	MCPM	$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$	0.5	$10^{-1.14} (\text{mol L}^{-1})^3$
Monocalciumphosphat-Anhydrit	MCPA	$Ca(H_2PO_4)_2$	0.5	$10^{-1.14} (\text{mol L}^{-1})^3$
Dicalciumphosphat-Dihydrat (Brushit)	DCPD	$CaHPO_4 \cdot 2 H_2O$	1.0	$10^{-6.59} (\text{mol L}^{-1})^2$
Dicalciumphosphat-Anhydrit (Monetit)	DCPA	$CaHPO_4$	1.0	$10^{-6.90} (\text{mol L}^{-1})^2$
Octacalciumphosphat	OCP	$Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5 H_2O$	1.33	$10^{-96.6} (\text{mol L}^{-1})^{14}$
$\alpha$ -Tricalciumphosphat	$\alpha$ -TCP	$\alpha\text{-}Ca_3(PO_4)_2$	1.5	$10^{-25.5} (\text{mol L}^{-1})^5$
$\beta$ - Tricalciumphosphat	$\beta$ - TCP	$\beta\text{-}Ca_3(PO_4)_2$	1.5	$10^{-29.5} (\text{mol L}^{-1})^5$
Amorphes Calciumphosphat	ACP	$Ca_x(PO_4)_y \cdot n H_2O$	1.2-2.2	kann nicht genau gegeben
Calcium-defizitärer Hydroxylapatit	CDHA	$Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$ ( $0 < x < 1$ )	1.5-1.67	$10^{-85.1} (\text{mol L}^{-1})^y$
Hydroxylapatit	HA	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1.67	$10^{-116.8} (\text{mol L}^{-1})^{18}$
Tetracalciumphosphat	TTCP	$Ca_4(PO_4)_2O$	2.0	$10^{-37}\text{-}10^{-42} (\text{mol L}^{-1})^6$

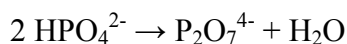
**Tabelle 1.3.1** Berechnete Löslichkeitsprodukte der wichtigsten Calciumphosphate (Lit.<sup>[15, 16]</sup>).

Für die durchgeführten Arbeiten waren vor allem OCP, HAP und FAP von Bedeutung, die anderen biologisch vorkommenden Phasen werden der Vollständigkeit halber ebenfalls kurz beschrieben.

MCPM (Monocalciumphosphat-Monohydrat  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ): Das am stärksten saure und am besten wasserlösliche Calciumphosphat kann nur aus stark saurer Lösung gefällt werden. Wegen seiner hohen Acidität<sup>[17]</sup> und Löslichkeit wird es nicht in biologischen Systemen eingebaut, allerdings gibt es einige medizinische Anwendungen<sup>[18, 19]</sup>. Oberhalb von 100 °C wandelt sich MCPM unter Wasserabgabe in MCPA um.

MCPA (Monocalciumphosphat-Anhydrit  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ): MCPA kristallisiert wie MCPM aus stark sauren Lösungen aus (allerdings erst oberhalb 100 °C) und kommt ebenfalls nicht als Biomineral vor. Es besitzt keine medizinische Relevanz und wird zurzeit lediglich in der Düngemittelindustrie<sup>[20, 21]</sup> eingesetzt.

DCPD (Dicalciumphosphat-Dihydrat  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ): DCPD oder Brushit kristallisiert unterhalb von 80 °C aus wässriger Lösung im pH-Bereich von 4-6<sup>[8, 22]</sup>. Oberhalb von pH 5.5 tritt bevorzugt eine nanokristalline Apatitphase auf<sup>[23]</sup>. Hydroxylapatit kann durch Hydrolyse aus Brushit entstehen. In der Lösung tritt oberhalb von 80 °C unter Entwässerung Umwandlung zu DCPA ein, bei trockenem Erhitzen erst bei 180 °C. Bei weiterem Erhitzen auf 320-340 °C entsteht  $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ <sup>[24]</sup>.

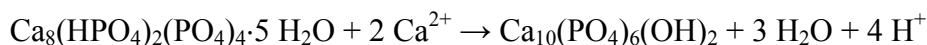


Bei Erhitzen über 700 bzw. 1200 °C entsteht die  $\beta$ - bzw.  $\alpha$ -Form des Pyrophosphats<sup>[25]</sup>.

Brushit kommt bei pathologischen Verkalkungen wie Zahnsteinen und Blasensteinen<sup>[6]</sup> vor und spielt eine Rolle in der Knochenbildung und Zahnschmelzauflösung durch Karies<sup>[6-8]</sup>. Wegen weiterer chemischer und industrieller Anwendungen ist DCPD ein wichtiges Biomineral aus der Klasse der Calciumphosphate.

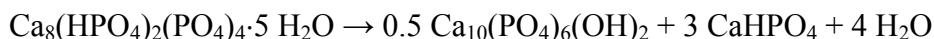
DCPA (Dicalciumphosphat-Anhydrit  $\text{CaHPO}_4$ ): DCPA oder Monetit kristallisiert oberhalb von 100 °C aus wässriger Lösung oder entsteht durch Erhitzung von DCPD, es kommt jedoch im Gegensatz zum DCPD biologisch nicht vor. Wie DCPD kann DCPA mit ausreichend Wasser zu Hydroxylapatit hydrolysiert werden. DCPA ist ein Bestandteil medizinischer Zemente<sup>[26]</sup>.

OCP (Octacalciumphosphat  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ): OCP entsteht in wässriger Lösung abhängig von Temperatur und pH-Wert (37 °C bei pH 6.5; 80 °C bei pH 4<sup>[22]</sup>) als metastabile Zwischenphase bei der Bildung thermodynamisch stabilerer Calciumphosphatphasen wie HAP und CDHA, es kann jedoch auch aus DCPD hergestellt werden<sup>[27, 28]</sup>. Pyrophosphate inhibieren die OCP-Fällung und lassen stattdessen ACP entstehen<sup>[29]</sup>. Die Hydrolyse von OCP mit zusätzlichem Calcium erzeugt HAP<sup>[30]</sup>.

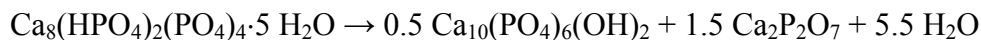




Die thermische Zersetzung von OCP verläuft nach einem komplexen Mechanismus und führt zu verschiedenen Phasen wie HAP und DCPA beim Erhitzen über 220 °C<sup>[28]</sup>:



Zwischen 325 und 600 °C entstehen HAP und  $\beta$ -Calciumpyrophosphat<sup>[31]</sup>:



Bei weiterer Erhitzung auf 650-900 °C treten Umwandlungen zu  $\beta$ -Tricalciumphosphat und  $\beta$ -Calciumpyrophosphat ein:



OCP wurde als erste feste Phase der Knochenmineralisation postuliert<sup>[32]</sup> und ist als Bestandteil von Zahnstein und Blasensteinen von medizinischer Bedeutung<sup>[33, 34]</sup>. Die typischen IR-Banden für OCP sind 865 und 910 cm<sup>-1</sup><sup>[31]</sup>.

$\beta$ -TCP ( $\beta$ -Tricalciumphosphat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ):  $\beta$ -TCP kann nicht durch Ausfällen aus wässriger Lösung hergestellt werden, sondern durch Calcinieren von CDHA oberhalb von 800 °C. Erhitzen bis 1125 °C führt zur besser löslichen Hochtemperaturphase  $\alpha$ -TCP. In der Natur kommt reines  $\beta$ -TCP nicht vor, sondern nur seine magnesiumhaltige Form  $\beta$ -(Ca, Mg)<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> genannt Whitlockit, ist in Zahnstein und Blasensteinen enthalten<sup>[6, 7]</sup>.  $\beta$ -TCP wird als Knochenzement<sup>[18, 35]</sup> und in Mischung mit HAP als Knochenersatzmaterial (biphasisches Calciumphosphat)<sup>[36, 37]</sup> verwendet.

$\alpha$ -TCP ( $\alpha$ -Tricalciumphosphat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ):  $\alpha$ -TCP ist eine bei Raumtemperatur metastabile Phase, die durch Erhitzen von  $\beta$ -TCP zugänglich ist. In der Medizin kommt es in Knochenzementen<sup>[26, 38]</sup> zum Einsatz.

ACP (Amorphes Calciumphosphat): Die Zusammensetzung von ACP, welches oft als Zwischenprodukt bei der Kristallisation anderer Calciumphosphate (über die Zwischenstufe OCP<sup>[39]</sup> aus wässriger Lösung auftritt<sup>[40, 41]</sup>), hängt stark von den Kristallisationsbedingungen wie pH-Wert und Ionenkonzentration ab. Fluoridionen verhindern die Bildung von ACP, stattdessen entsteht FAP<sup>[7]</sup>, welches im Rahmen dieser Arbeit von großer Bedeutung war. Wie der Name vermuten lässt, ist ACP röntgenamorph; die Nahordnung ist allerdings über EXAFS<sup>[42, 43]</sup> analysierbar. Es kommt in pathologischen Verkalkungen von Weichgeweben (Verkalkung von Herzklappen<sup>[6-8]</sup>) vor und wird in der Medizin als Calciumphosphatzement<sup>[26, 44]</sup> eingesetzt.

CDHA (Calciumdefizitärer Hydroxylapatit  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  mit  $0 < x < 1$ ): CDHA wird aus kochender wässriger basischer Lösung hergestellt, in der sich zuerst gebildetes OCP oder ACP (je nach pH-Wert) in CDHA umwandelt. Je nach Stöchiometrie des CDHA wandelt es sich ab 700 °C in reines  $\beta$ -TCP oder in ein Gemisch aus  $\beta$ -TCP und HAP um. Reines

CDHA kommt nicht natürlich vor, es sind immer Fremdionen, z.B.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ , in die Gitterstruktur mit eingebaut, weswegen auch die Elementarzellenparameter variieren. Mit entsprechenden Ionen entsteht „*biologischer Apatit*“, auch *Dahllit* genannt, der die tatsächliche Mineralphase in Knochen, Zähnen und auch pathologischen Verkalkungen darstellt<sup>[7, 8]</sup>, obwohl der Einfachheit halber meistens nur von Hydroxylapatit gesprochen wird. Daher ist das medizinische Interesse an CDHA für den Einsatz als Knochenersatzstoff nicht verwunderlich.

HAP (Hydroxylapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ): HAP ist das stabilste, da am schwersten lösliche Calciumphosphat und tritt in zwei Kristallstrukturen auf. Unter 250 °C liegt es monoklin vor, oberhalb in hexagonaler Struktur, die jedoch durch Fremdionen (z. B.  $\text{F}^-$ ) bei Raumtemperatur stabilisiert werden kann<sup>[45]</sup>. Obwohl HAP in biologischen Systemen nie rein vorkommt<sup>[46]</sup>, wird es aufgrund seiner Ähnlichkeit zum Knochenmineral in der Chirurgie als aktive Beschichtung auf metallischen Implantaten (Hüftendoprothese, Zahnimplantate) eingesetzt<sup>[47, 48]</sup>. Aufgrund der geringen Löslichkeit des HAP wird jedoch durch das Einbringen von Fremdionen oder den Zusatz leichter löslicher Calciumphosphate versucht, die Resorbierbarkeit zu erhöhen. Zur Herstellung von HAP-Pulver existieren verschiedene Methoden wie Festkörperreaktionen, hydrothermale Reaktionen und Fällungsreaktionen; außerdem ist die Hydrolyse von DCPD in alkalischer Lösung möglich<sup>[7, 49]</sup>. Beim HAP sind viele Substitutionen des Phosphats ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{VO}_4^{3-}$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{MnO}_4^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ), des Hydroxids ( $\text{F}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) und auch des Calciums ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ) möglich. Die dadurch auftretende breite Mischbarkeit führt zur Nichtstöchiometrie.

TTCP (Tetracalciumphosphat  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ): TTCP, das basischste Calciumphosphat, kann nicht aus wässriger Lösung gefällt, sondern nur durch Festkörperreaktionen oberhalb 1300 °C z. B. aus DCPA und  $\text{CaCO}_3$  in trockener Luft<sup>[50, 51]</sup>, hergestellt werden.



Das entstehende TTCP ist jedoch nicht wasserstabil und hydrolisiert zu HAP und  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , weshalb es in biologischen Systemen nicht vorkommt.



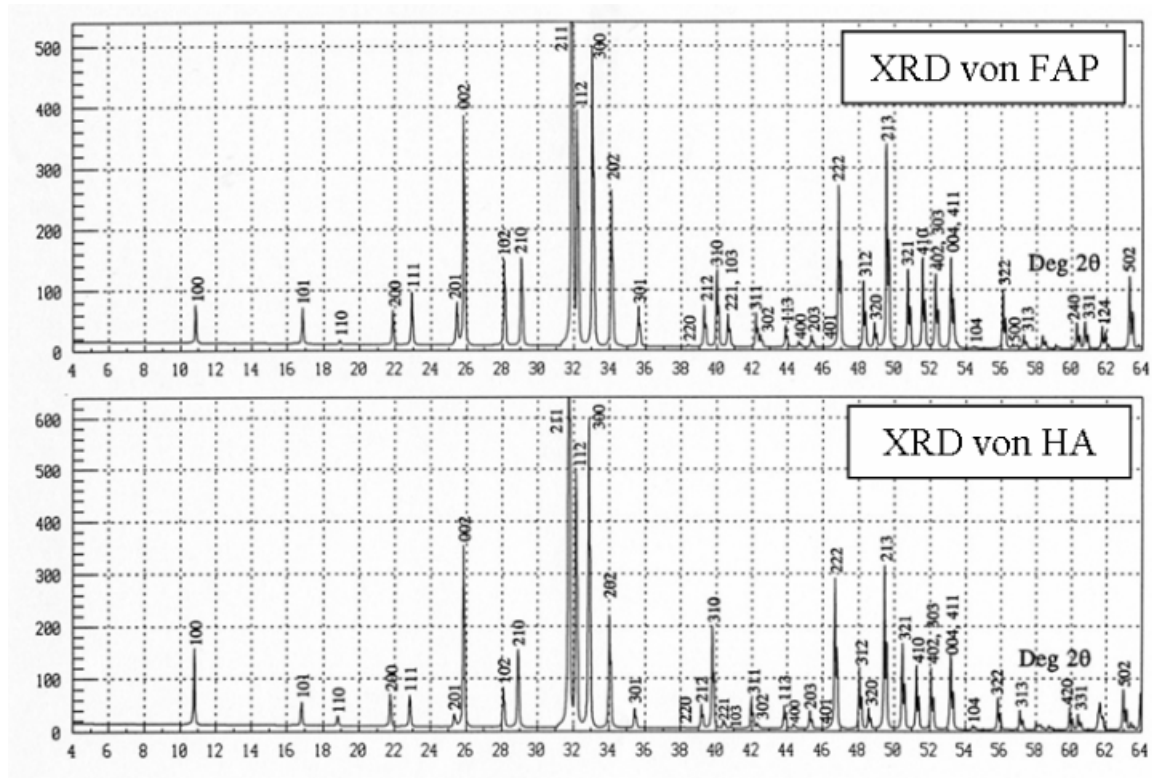
Einsatzgebiet für TTCP sind Knochenzemente<sup>[44, 52]</sup>.

FAP (Fluorapatit  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ): Von den vielen durch Substitution von Ionen bei den verschiedenen zuvor vorgestellten Calciumphosphaten möglichen Phasen, ist FAP in dieser Arbeit von besonderem Interesse.

Ersetzen im HAP Fluoridionen die Hydroxidionen, so handelt es sich um FAP. Die Herstellung verläuft über die Zugabe von Fluorid zu einer Lösung, aus der unter normalen

Bedingungen ACP entstehen würde, was durch die Fluoridionen verhindert wird. Das resultierende FAP ist kristalliner, stabiler und noch schwerer löslich als das ansonsten aus ACP entstehende HAP<sup>[7]</sup>.

In den folgenden beispielhaften XRD-Analysen wird deutlich sichtbar, dass FAP und HAP im gleichen Kristallgittertyp kristallisieren. Die Kristallstruktur ist so ähnlich, dass nur schwer zwischen beiden unterschieden werden kann. Wie hier zu sehen unterscheiden sich die Elementarzellenparameter:



**Abbildung 1.3.2** XRD von Fluorapatit und Hydroxylapatit (<sup>[50]</sup>)

Eine Unterscheidung ist über andere Analysen möglich. Bei IR-Untersuchungen fällt auch eine große Ähnlichkeit auf, dort ist HAP jedoch an der Hydroxid-Bande bei ca.  $630\text{ cm}^{-1}$  zu erkennen, die beim FAP fehlt<sup>[53]</sup>.

Eine EDX-Analyse weist Fluor nach, das beim HAP nicht vorhanden ist (siehe Kapitel 2.2).

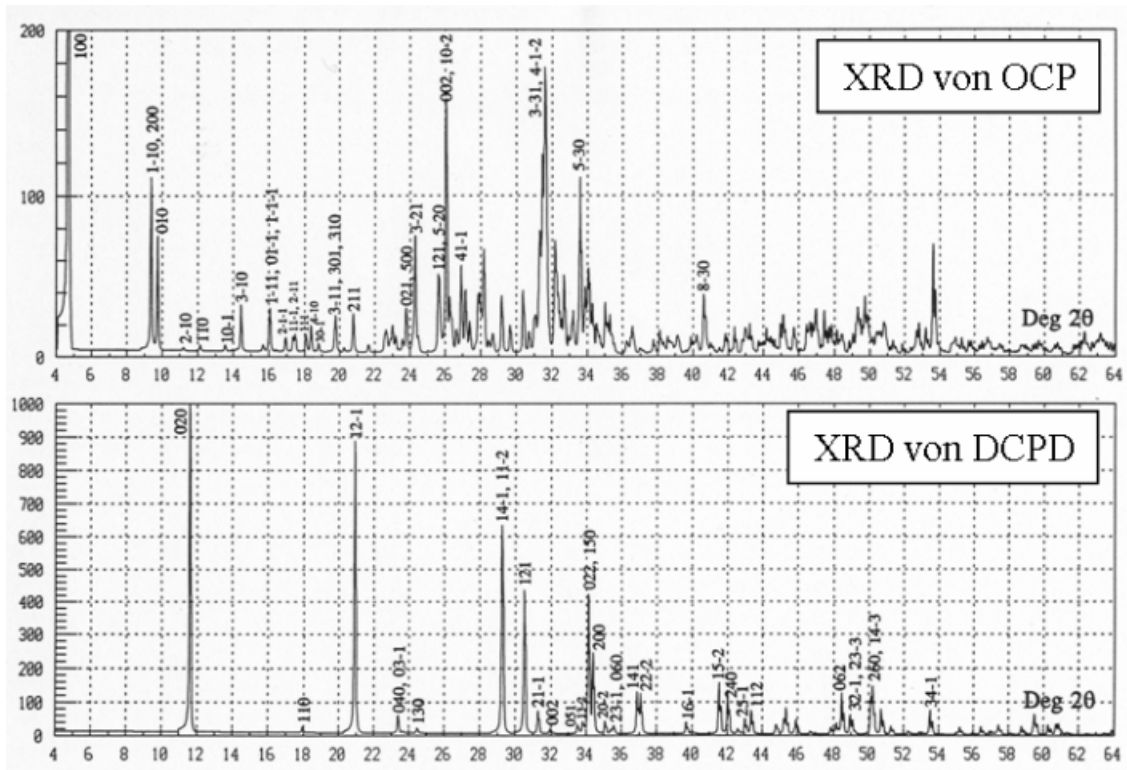
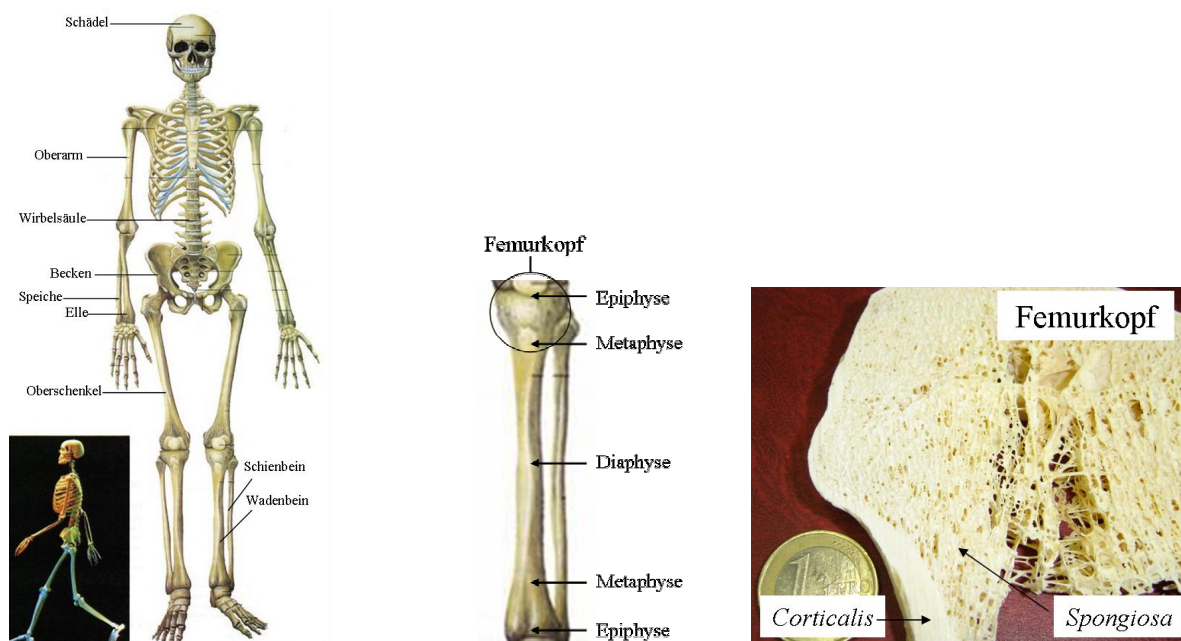


Abbildung 1.3.2 XRD von Octacalciumphosphat und Dicalciumphosphat-Dihydrat (<sup>[50]</sup>)

## 1.4 Menschliche Hartgewebe

### 1.4.1 Knochen

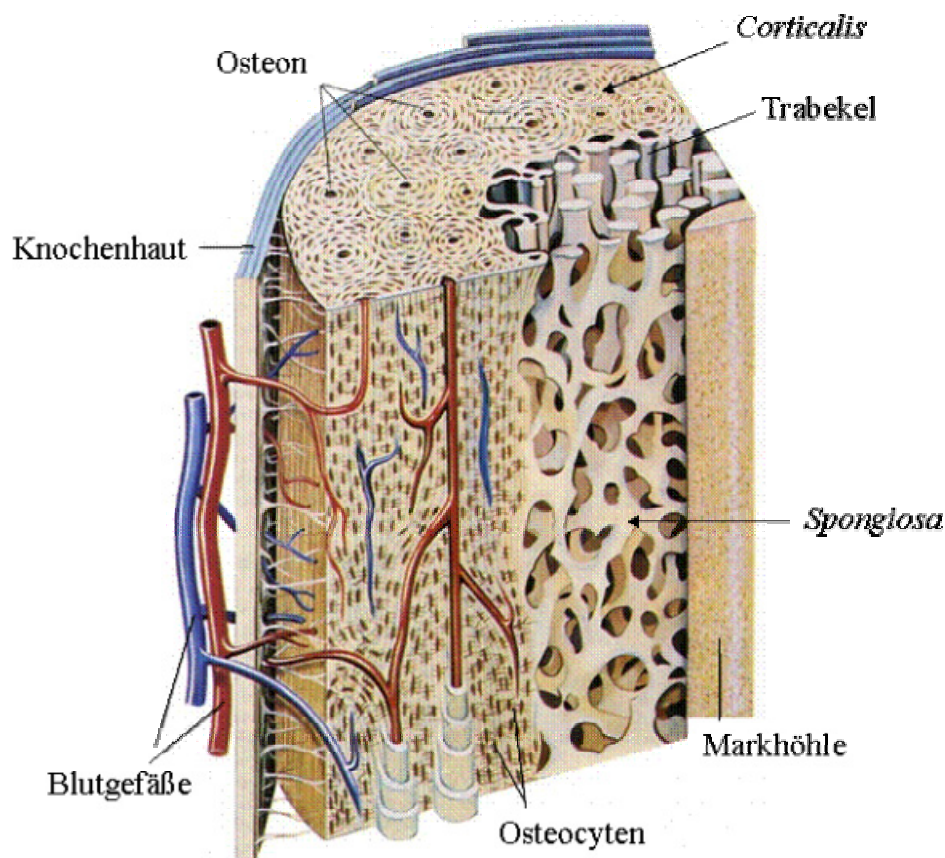
Knochen bilden den größten Teil des Hartgewebes des menschlichen Körpers<sup>[4]</sup>. Er übernimmt im menschlichen Körper vor allem stützende (Skelett) und schützende (Schädel) Funktionen und ist dazu der wichtigste Speicher für Calcium, Phosphat, Magnesium, Natrium und andere Ionen. Mit Hilfe des Knochens kann im Metabolismus die Ionenkonzentration durch Pufferwirkung immer konstant gehalten werden. Auch einige aktive Biomoleküle (z. B. Wachstumsfaktoren und andere Proteine) werden dort gespeichert. Der Knochen besteht neben einem kleinen Wasseranteil je nach Einsatzort etwa zu gleichen Teilen aus Calciumphosphat und einer organischen Matrix (überwiegend Collagen Typ I<sup>[54]</sup>, dazu Osteonectin, Osteocalcin, Osteopontin und andere). Aus chemischer Sicht handelt es sich also um einen Kompositwerkstoff. Der anorganische Teil sorgt für Härte und Bruchfestigkeit, die organische Matrix für Elastizität (Zug- und Biegefestigkeit)<sup>[55]</sup> unterstützt von der Knochenflüssigkeit. Die Mineralphase liegt hauptsächlich in der Apatitstruktur vor, ist wenig kristallin und enthält Fremdionen<sup>[7, 8, 56]</sup>, was zur Bezeichnung „biologischer Apatit“ (Dahllit oder CDHA, siehe Kapitel 1.3) führte.



**Abbildung 1.4.1.1** links: menschliches Skelett; mitte: Teile des Oberschenkelknochen (Quelle: Trevor Hill/MC Picture Library); rechts: Querschnitt durch einen Femurkopf

Die häufigsten Kationen sind 0.9 %  $\text{Na}^+$ , 0.7 %  $\text{Mg}^{2+}$ , 0.03 %  $\text{K}^+$ , die häufigsten Anionen 7.4 %  $\text{CO}_3^{2-}$ , 0.13 %  $\text{Cl}^-$ , 0.07 %  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  und 0.03 %  $\text{F}^{-[7]}$ , wobei die genauen Werte je nach Knochen variieren. Zur einfacheren Beschreibung wird der mineralische Knochenanteil jedoch zumeist nur Hydroxylapatit genannt.

Knochen haben auf ihren jeweiligen Einsatzort angepasste Formen und Strukturen. Die Knochen in den Gliedmaßen (Arm-, Bein-, Finger- und Zehenknochen) laufen von einer relativ dünnen Mitte an den Enden wie Hanteln auseinander (siehe Abb. 1.4.1.1), um den von dort einwirkenden Druck auf den ganzen Knochen zu verteilen. Der im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Knochenersatz war vor allem für den Oberschenkelhals (Ersatz des Femurkopfes) und die Zehen (Fußklammern) geeignet.



**Abbildung 1.4.1.2** Schematische Darstellung des Knochenaufbaus (Quelle: MC Picture Library)

Strukturell besteht der von Knochenhaut (*Periosteum*) überzogene Knochen normalerweise außen aus der dichten und kompakten *Corticalis*, durch die von knochenabbauenden Zellen (*Osteoklasten*) gebildete Tunnel von 100-300  $\mu\text{m}$  Durchmesser (*haversisches System*) verlaufen (siehe Abb. 1.4.1.2). Die innerhalb dieser Tunnel verlegten Nerven und

Blutkapillaren gewährleisten Ionen- und Sauerstofftransport, was zur Versorgung der Knochenzellen unerlässlich ist. Die Blutkapillaren werden dabei von knochenbildenden Zellen (*Osteoblasten*) konzentrisch von lamellarem Knochen (*Osteon*) eingefasst<sup>[4]</sup>.

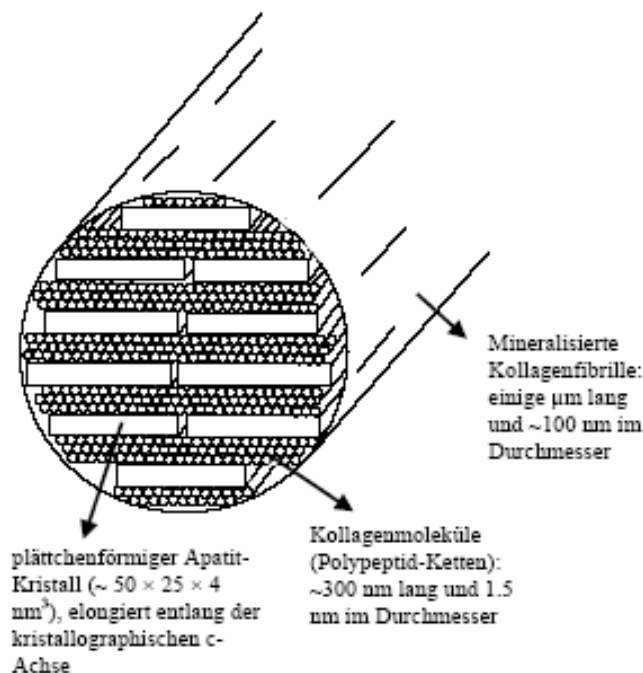
In der unter der Corticalis liegenden porösen *Spongiosa* verlaufen Knochenstränge, die so genannten *Trabekel*. Diese sorgen über ihre Orientierung entlang der üblichen mechanischen Belastungsrichtungen des Knochens für richtungsabhängige Stabilität. Trotz ihrer geringeren Dichte ist die Spongiosa deshalb stabiler gegenüber Biegung, während die härtere Corticalis mehr Druck aushält. Das Verhältnis von Corticalis und Spongiosa ist abhängig von der üblichen auf den Knochen einwirkenden Kraft. Die Transformation zwischen beiden Phasen ist nach dem *Wolfschen Transformationsgesetz*<sup>[57, 58]</sup> möglich. Somit ist der Knochen immer perfekt an seinen jeweiligen Einsatzort angepasst und bei geringst möglichem Materialaufwand so stabil wie nötig<sup>[59, 60]</sup>. In die Poren der Spongiosa ist das gelartige Knochenmark eingelagert. In der Knochenstruktur spielen Poren und deren Größe eine entscheidende Rolle, da nur durch sie Stofftransport ins Knocheninnere stattfinden kann.

Knochentyp	E-Modul (GPa)		E-Modul (GPa)
Oberschenkel	17.2	Spongiosa-Knochen	0.09
Schienbein	18.6	Cortikalis-Knochen	18
Oberarm	17.2		
Speiche	18.0	Enamel	50
Halswirbel	0.23	Dentin	14
Rückenwirbel	0.16		

**Tabelle 1.4.1.1** Elastizitätsmoduli einiger Knochentypen und Zahnmineralien (<sup>[61]</sup>)

Ein Beispiel für lokal unterschiedliche Knochenstruktur ist der Oberschenkelknochen (siehe Abb. 1.4.1.1). Sein mittlerer Teil (*Diaphyse*) besteht hauptsächlich aus Corticalis, beim Übergang zu den Enden (*Metaphyse*) tritt mehr und mehr Spongiosa auf. Bei den endständigen Knochenabschnitten (*Epiphyse*) geht die Corticalis in Knorpel über, der dort die Spongiosa bedeckt. Knorpel und Sehnen, nicht vollständig mineralisierte Hartgewebe, bilden im erwachsenen Körper unter anderem die Gelenke und befestigen die Muskeln an den Knochen. Auch bei der ersten Gliedmaßenbildung im Embryo entsteht zuerst Knorpelgewebe, welches von den Knochenzellen zu Knochen transformiert wird<sup>[62]</sup>. Bei der Bildung des Schädelknochens tritt jedoch keine Knorpelphase auf.

Zum Verständnis der Knochenfeinstruktur ist eine Fokussierung auf eine kleinere Größenskala (nm-Bereich) notwendig. Die kleinsten Bauelemente des Knochens sind ca. 300 nm lange und 1.5 nm dicke Collagenmoleküle, die zusammen mit plättchenförmigen CDHA-Kristallen (ca.  $50 \cdot 25 \cdot 4 \text{ nm}^3$ ) die mineralisierten Collagenfasern<sup>[63]</sup> (*Fibrillen* mit 100 nm Durchmesser und bis 10  $\mu\text{m}$  Länge) bilden (siehe Abb. 1.4.1.3). Einer der ersten Schritte der Mineralisierung ist dabei die Bindung von Calcium an das Protein Osteonectin, welches eine Calcium-Rezeptorstelle besitzt. Des Weiteren sind eine Reihe von Fremdionen ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$  etc.) und Proteine (Osteocalcin u. a.) für die Mineralisation verantwortlich, deren Fehlen zu Knochendefekten führt. Collagen und der mineralisierende Apatit sind über saure Phosphat- und Carboxylat-Endgruppen miteinander verbunden. Die Bruchfestigkeit kommt dadurch zustande, dass sich die einzelnen, nur wenige Elementarzellen großen, Apatitkristalle bei ihrer Mineralisation an der Ausrichtung von Collagentripelhelices orientieren und deshalb parallel zum Collagen stehen<sup>[64, 65]</sup>.



**Abbildung 1.4.1.3** Schema von mineralisierten Knochenfibrillen <sup>[66]</sup>

Diese Fibrillen lagern sich je nach Einsatzort zu unterschiedlichen Netzwerken ( $\mu\text{m}$ -Bereich) zusammen, bei denen mehrere Anordnungen vorkommen<sup>[65]</sup>. Für größere Strukturen (mm-Bereich) sind dann vor allem drei Arten von Knochenzellen verantwortlich, die miteinander ein stabiles Gleichgewicht aus Knochenauf- und abbau einstellen:

Die beweglichen Osteoblasten, die zur Gruppe der osteogenen Zellen gehören, bilden neues Knochenmaterial. Sie synthetisieren in ihren Ribosomen Polypeptidketten, die in ihrem Golgi-Apparat hydroxyliert, aminiert und carboxyliert werden. Die Zelle knüpft aus je drei dieser



Procollageneinheiten eine Tripelhelix und transportiert diese in den Knochenraum. Mit Abtrennung der Polypeptidenden von der Tripelhelix entsteht ein Collagenmolekül. Dieser Prozess dauert etwa 35 Stunden<sup>[67]</sup>. Auf der so entstandenen organischen Matrix kristallisiert dann Calciumphosphat aus.

Im Zusammenspiel mit den Osteoblasten sorgen die auch beweglichen knochenresorbierenden Osteoklasten für einen stetigen Neuaufbau des Knochenminerals (Remodelling). Bei Osteoklasten handelt es sich um mehrkernige Zellen, die aus der Fusion von Monocyten und Macrophagen entstehen, sie gehören also zur Gruppe der Blutzellen<sup>[68, 69]</sup>. Zur Resorption lagert sich ein Osteoklast auf die Knochenoberfläche und bedeckt diese. Das Auflösen des Knochenminerals findet bei pH 4.5-4.8 an der gewellten Unterseite der Zelle statt<sup>[70-72]</sup>, gleichzeitig wird das Collagen enzymatisch über die Collagenasen abgebaut. Unter dem Osteoklast entsteht so eine Mulde, die so genannte Resorptionslakune, die durch langsame Bewegung der Zelle (50 µm pro Tag) zu einer Rille im Knochen erweitert wird. In dieser Rille wird von Osteoblasten das schon erwähnte Osteon aufgebaut<sup>[73]</sup>.

Osteocyten entwickeln sich aus Osteoblasten, die komplett von Knochenmaterial umschlossen sind. Die daher unbeweglichen Osteocyten sind untereinander vernetzt und sind weiterhin in der Lage Collagen zu produzieren. Sie nehmen auch am Ionenaustausch teil und fungieren als Detektoren für mechanische Belastung, wodurch die Osteoblastenaktivität ansteigt und somit der Knochen bei Bedarf verstärkt wird.

Zum Mechanismus der Knochenbildung existieren zwei Theorien:

Eine Vermutung ist, dass Calcium- und Phosphationen aus dem bezüglich der CDHA-Bildung übersättigten Blutserum zwischen den Collagenfibrillen auskristallisieren<sup>[74]</sup>, was als *passiver Prozess* bezeichnet wird.

Eine andere Vermutung geht von einem *aktiven Prozess* aus, wobei die Osteoblasten die Calcium und Phosphationen in einem Matrixvesikel (30-100 nm)<sup>[75, 76]</sup> akkumulieren. Die dort wachsenden Kristalle werden beim Erreichen einer bestimmten Größe in den Knochenraum transportiert und wachsen dort durch Anlagerung weiterer Ionen zu den beobachteten Plättchen an. Die Kristallgröße ist dabei von der Periodizität der Fibrillen, 67 nm mit 35-40 nm großen Lücken oder Löchern zwischen den Enden der Collagenmoleküle, begrenzt.

In beiden Fällen ist die Kristallisation nicht zufällig, sondern von komplexen Mechanismen gesteuert und begrenzt. Eine Rolle spielen Inhibitoren (Ionen wie  $Mg^{2+}$ ,  $P_2O_7^{4-}$  etc. und Hormone wie Testosteron und Östrogen)<sup>[77]</sup>. Ein anderer Aspekt ist die lokale Regulation durch nicht-collagene Proteine, die Einfluss auf Adhäsion, *Proliferation* (Erhöhung der Zellenanzahl), *Differenzierung* (Spezialisierung zu anderer Zellart) und funktionale

Aktivität von osteogenen Zellen nehmen. Einige dieser Proteine sind Transformations-differenzierungsfaktoren, Wachstumsfaktoren, chemotaxische Faktoren und andere<sup>[78]</sup>. Aus dieser großen Gruppe sollen hier nur drei wichtige Vertreter beschrieben werden:

BMP (bone morphogenetic proteines): Die Familie (ca. 7 Mitglieder) der im Organismus vorkommenden BMPs, die sich aus über 100 Aminosäuren zusammensetzt, sind für Hemotaxis, Zellteilung, Proliferation und Differenzierung von Knochenzellen (Osteoblasten) verantwortlich<sup>[79, 80]</sup> und aktivieren weitere osteogene Zellen (Fibroblasten). Für die Knochenremodellierung sind besonders BMP-2, -4 und -7 von Bedeutung<sup>[81, 82]</sup>. BMP-4 sorgt für das Wachstum früher Knorpelstadien, weiteres Knorpelwachstum wird von BMP-2 und -6 induziert<sup>[83]</sup>. Zur Entstehung von vergleichsweise kleinen Knochen wie Rippen oder Fingern ist BMP-5 von Bedeutung. Die BMPs sind die einzigen bekannten Wachstumsfaktoren, die echte osteoinduktive Eigenschaften besitzen, also lokales Knochenwachstum bewirken<sup>[84, 85]</sup>. BMP wirkt dabei als Signalmolekül für Vorläuferzellen der Knochenzellen. Beim Auffüllen von großen Knochendefekten mit Knochenersatzmaterialien wie Calciumphosphaten wird die natürliche BMP-Konzentration im Blut nicht ausreichend sein<sup>[86]</sup>, um genug Osteoblasten zu bilden. Mit zusätzlichem BMP aus einem in den Knochendefekt eingesetzten Implantat ist es möglich, das Knochenwachstum zwischen Implantat und Knochen zu beschleunigen.

Funktionalisierung durch Auftropfen ist auf Calciumphosphaten möglich, da ihre Oberfläche den Proteinen gute Adsorptionsmöglichkeiten bietet, wobei eine hohe Kristallinität von Vorteil ist. Eine für das Osteoblastenwachstum günstige BMP-2 Konzentration liegt im Bereich 30-50 ng mL<sup>-1</sup> <sup>[87]</sup>. Auch für oberflächlich mit Calciumphosphaten beschichtete metallische Implantate in Chirurgie und Orthopädie steht dieser Weg der Funktionalisierung offen. Die Fähigkeit zur Knochenneubildung des BMP ist so groß, dass bei Injektion in Weichgewebe auch dort Knochenmaterial entsteht<sup>[84, 85]</sup>.

Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, BMP in eine das Implantat umgebende Calciumphosphatschicht einzubauen (siehe Kapitel 2.1.7), wodurch es beim Auflösen dieser Schicht zu einer langsamen Freisetzung des BMP kommen würde. Dies ist wesentlich wirkungsvoller als die direkte Injektion von BMP, da in diesem Fall ein Anteil von den Körperflüssigkeiten vom gewünschten Ort wegtransportiert werden würde.

Transformationswachstumsfaktoren: Diese haben ebenfalls Einfluss auf Proliferation sowie Differenzierung mesenchymaler Zellen und erhöhen dadurch die Collagenproduktion<sup>[88]</sup>.

Interleukine (IL-1-6): Interleukine werden u. a. von Macrophagen, Fibroblasten und Lymphozyten produziert und erhöhen die Aktivität der Knochen- und Blutzellen<sup>[77, 89]</sup>.

Aktiviert Lymphozyten setzen IL-2 frei und die Leukozyten produzieren typischerweise IL-6 oder IL-1ra<sup>[90]</sup>.

Die genauen Wechselwirkungen zwischen all diesen Faktoren, Knochenzellen und dem daraus resultierenden Remodellierungsprozess sind bis heute nicht vollständig verstanden. Ungleichgewichte in diesen komplexen Gleichgewichtsprozessen können zu schweren gesundheitlichen Problemen führen. Erhöhte Osteoklastenaktivität führt zu *Osteoporose*, zu stark aktivierte Osteoblasten sorgen für *Osteopetrose*. Mechanische Belastung kann die Funktionalität (Proliferation, Adhäsion, etc.) von verschiedenen Zellen beeinflussen<sup>[91, 92]</sup>. Geänderte äußere Einflüsse, wie Schwerelosigkeit im Weltraum und die damit verbundene verringerte Knochenbelastung, können zu einer Schwächung des Knochens führen. Auch der Einsatz eines fixierten Implantats reduziert teilweise in angrenzenden Bereichen die Belastung und führt so zum Knochenabbau und zur Lockerung des Implantats.

Bei zu starker mechanischer Beanspruchung kommt es zu verschiedenen Arten von Knochenbrüchen, abhängig von Art, Stärke und Geschwindigkeit der Belastung. Bei nicht zu großer Krafteinwirkung auf eine kleine Fläche kommt es zum einfachen Bruch ohne größere Verletzung des Weichgewebes. Aus großen Kräften und Flächen resultieren Splitterbrüche, die das Weichgewebe bis zur Oberhaut schwer beschädigen können. Bei noch schwereren Verletzungen mit sehr großen auftretenden Kräften (z. B. Schusswunden) können Teile des Knochenmaterials verloren gehen und die Zellen so stark beschädigt werden, dass es zu Nekrosen (Absterben von Gewebe) kommt. In allen Fällen kann durch eine Unterbrechung des Blutflusses in bestimmte Knochenbereiche die Knochenneubildung stark beeinträchtigt werden, weil die Versorgung (z. B. Sauerstoff) der Knochenzellen nicht mehr gewährleistet ist und sie daher ihre Aufgaben nicht mehr erfüllen können.

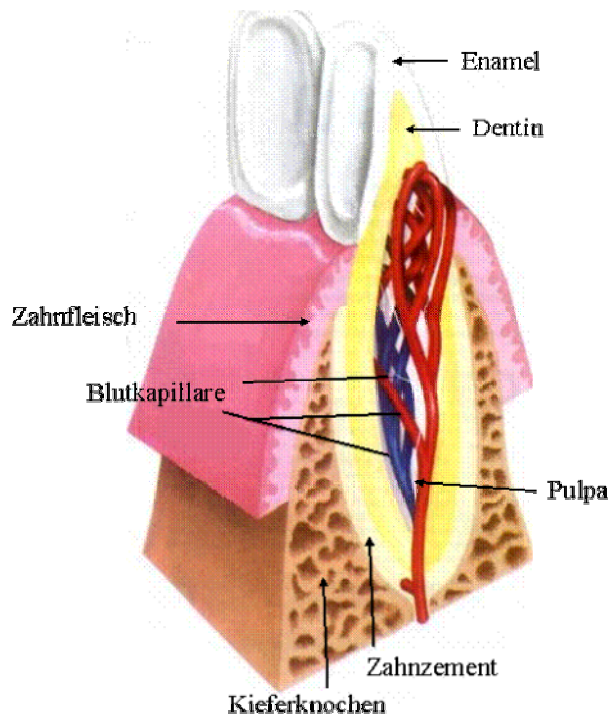


**Abbildung 1.4.1.4** Beispiel eines Knochenbruches (Quelle: Weinberg-Clark/Image Bank)

Bei einem einfachen Bruch können die beiden Bruchstücke durch Annäherung und äußere Fixierung (Schiene, Gips) wieder zusammenwachsen. Je besser die Anpassung und je geringer der Abstand zwischen den beiden Bruchstücken, desto schneller verläuft die Regeneration. Da nicht sofort neuer harter Knochen, sondern zuerst weiches, weniger mineralisiertes Gewebe (Kallusknochen) entsteht, darf die Bruchstelle nicht bewegt werden. Unvollständige Blutzufuhr (stärkere Verletzung) verlangsamt die Knochenheilung. Oben beschriebene Regulationsfaktoren sorgen für eine lokale Akkumulation der Knochenzellen, neu entstehende Trabekel vernetzen sich und erhöhen so die Stabilität. Der so neu generierte Knochen ist noch porös und weniger stabil als der ursprüngliche Knochen. Mit der Zeit wandelt sich dieser Knochen nach dem Wolfschen Transformationsgesetz<sup>[57, 58]</sup> um, bis er volle mechanische Belastbarkeit besitzt, was 12-18 Monate dauern kann.

### 1.4.2 Zähne

Zähne sind nach den Knochen das wichtigste Hartgewebe des menschlichen Körpers sowie der höheren Tiere<sup>[4]</sup>. Ihre Hauptfunktion ist die Zerkleinerung von Nahrung, einigen Tieren dienen sie auch als Waffe oder zu anderen Zwecken. Menschen brauchen Zähne zudem zur Erzeugung bestimmter Laute (s, z, sch), weshalb zahnlose Menschen nur undeutlich sprechen.



**Abbildung 1.4.2.1** Aufbau eines menschlichen Zahns (Quelle: Gibbs Oral Hygiene Service)

Zähne bestehen aus dem äußerlichen Zahnschmelz und dem darunter liegenden Zahnbein, in das die Zahnhöhle (*Pulpa*) eingelagert ist (siehe Abb. 1.4.2.1)<sup>[93]</sup>. Zähne besitzen je nach Art eine bis drei Wurzeln, mit denen sie in den Kieferknochen eingewachsen und dort mit Zahnzement befestigt sind, welcher die Auflösung des Zahns durch Osteoklasten verhindert. Zahnfleisch bedeckt den Übergang vom Kieferknochen zum Zahn und verhindert so das Eindringen von Bakterien.

Enamel, das Mineral des Zahnschmelzes, besteht aus carbonathaltigem CDHA (98-99 %)<sup>[94]</sup> ohne Collagen und enthält oberflächlich zwischen 0.05 und 1 % Fluorid<sup>[95]</sup>, das im CDHA die Hydroxidpositionen besetzt, jedoch kein FAP bildet<sup>[4, 96]</sup>. Der Zahnschmelz von Haifischen besteht vollständig aus FAP<sup>[97, 98]</sup>. Der Einbau von Fluorid (Fluorhydroxylapatit, geringere Löslichkeit) erhöht die Säureresistenz, steigert jedoch nicht die Härte. Trotzdem ist Enamel das härteste Gewebe (E-Modul 80 GPa) im Körper, es ist allerdings sehr spröde

(Druckfestigkeit 10 MPa)<sup>[99]</sup>. Es kann nur einmal im Leben gebildet und nicht repariert werden. Bei Verletzungen des Zahnschmelzes (Säureeinwirkung) kommt es in den Lücken zwar wegen Übersättigung des Speichels und der Nahrung zur Calciumphosphat-kristallisation, die neu gebildeten Kristalle haften jedoch nur unvollständig. Eine größere Gefahr für den Zahn bzw. das Enamel liegt in der Aktivität oraler Mikroorganismen, die Karies hervorrufen können<sup>[100, 101]</sup>. Die Dimensionen der nadelförmigen, parallel angeordneten Enamelkristalle sind mit einigen 10 µm Länge bei teilweise nur 50 nm Breite<sup>[102, 103]</sup> größer als die von Dentin und Knochen. Der genaue Mechanismus zur Kristallisation, die unter biologischer Kontrolle durch Ameloblasten abläuft<sup>[104]</sup>, von Enamel wird derzeit noch intensiv diskutiert. Einige Theorien gehen von einem epitaktischen Wachstum auf zuvor auskristallisierten Dentinkristallen aus<sup>[105-107]</sup>. Eine andere Möglichkeit ist ein Wachstumsstart des Enamels in einer gewissen Entfernung zum Dentin, welche durch Kristallwachstum überbrückt wird<sup>[108-111]</sup>.

Dentin, das Mineral des Zahnbeins, ist mit dem Knochenmineral vergleichbar<sup>[4, 50]</sup>. Im Gegensatz zu Enamel enthält es weniger Apatit, dafür jedoch Collagen, was zu höherer Elastizität (E-Modul 15 GPa) und größerer Druckfestigkeit (100 MPa) führt<sup>[99]</sup>. Das Dentin ist nach dem Enamel, von dem es durch Enameloid<sup>[4]</sup> getrennt ist, die zweite Schutzschicht der Pulpa und einem ständigen Remodellierungsprozess durch Odontoblasten unterworfen. Dentin ist Säure- und Bakterienangriffen gegenüber weniger stabil, weshalb Verletzungen schnell verschlossen werden müssen<sup>[93]</sup>. Da Dentin Nerven und Blutkapillaren in kleinen, parallelen Kanälen enthält, ist es auch empfindlich gegenüber Temperaturschwankungen.

Die Pulpa ist der empfindliche Innenteil des Zahns in dem der Hauptteil der Nerven und Blutgefäße liegt, welche den Zahn durch den Wurzelkanal verlassen und in den Kieferknochen reichen. Haben sich Bakterien durch Enamel und Dentin bis zur Pulpa durchgearbeitet<sup>[112]</sup>, so entstehen starke Schmerzen.

Bei falscher Position im Kiefer können Zähne durch nicht zu starke aber gleichmäßige Belastung im Kieferknochen bewegt werden. Die Belastung darf dabei Knochen und Zahn nicht beschädigen und muss dem Knochen die Möglichkeit geben, das durch Zahnbewegung entstandene Loch wieder auszufüllen. Die sich damit beschäftigende Sparte der Medizin ist die Kieferorthopädie. Die Kraft wird normalerweise mit Hilfe von Drähten ausgeübt, die Zähne weichen dann in Richtung der Krafteinwirkung zurück. Die Drähte können entweder mit organischen Klebern und Brackets<sup>[113, 114]</sup> direkt auf der Zahnoberfläche oder mittels einer Gaumenplatte befestigt werden.

## 1.5 Reaktionen des Organismus auf Fremdkörper

### 1.5.1 Blutzellen

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten biologischen Untersuchungen ist es nötig kurz darzulegen, welche Funktion die mit den verschiedenen Versuchsmaterialien in Kontakt gebracht Blutzellen im Körper übernehmen. Blutzellen reagieren schnell auf in den Organismus eingebrachte Fremdkörper, indem sie Proteine freisetzen, die erhöhte Aktivität anzeigen, weshalb anhand ihres Verhaltens auf die Wechselwirkung von Implantaten mit humanem Gewebe geschlossen werden kann.

Menschliches Blut, das 8 % des Körpergewichts ausmacht, übernimmt Transport- (Sauerstoff, Nährstoffe) und Regulationsfunktionen (Temperatur, Druck) und lässt sich durch Zentrifugieren in seine Fraktionen auftrennen. Es besteht aus 55 % wässriger Lösung, dem Blutplasma, und 45 % Blutzellen, die sich nach ihrer Herkunft klassifizieren lassen. Außerdem sind im Blut verschiedene Proteine anwesend wie z.B. Albumin und Fibrinogen<sup>[115]</sup>. Die Zellen teilen sich die im Organismus anfallenden Aufgaben; es findet keine vollkommene Spezialisierung statt. In dieser Beschreibung soll ein Überblick über Blutzellen, ihre Herkunft und ihre jeweilige Aufgabe gegeben werden.

Die von den lymphoiden Stammzellen abstammende Gruppe der *Lymphozyten* (Durchmesser je nach Art 4-18 µm) kommen in Blut und Lymphe vor und nehmen eine zentrale Rolle in der Bekämpfung von Infektionen ein. Ungefähr 80 % aller Lymphozyten sind T-Lymphozyten, die körperfremde Zellen angreifen, an allergischen Reaktionen teilnehmen und damit auch an der Abstoßung von Implantaten.

Von den myeloiden Stammzellen stammen Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten ab. Die *Erythrozyten* (Durchmesser 7.5 µm) oder auch „roten“ Blutkörperchen<sup>[116]</sup> spielen die Hauptrolle bei der Atmungsfunktion, da sie den Sauerstoff mittels des in ihnen enthaltenen Hämoglobins binden und transportieren. Sie haben die Form einer runden und doppelt konkaven Scheibe.

Die scheibenförmigen *Thrombozyten* (Durchmesser 2-4 µm) lassen Blut durch Thrombenbildung gerinnen, wodurch Verletzungen bedeckt<sup>[117]</sup> und Organfunktionen, wie die Leitungsfunktion von Blutgefäßen, aufrechterhalten werden.

Die kugelförmigen *Leukozyten* oder auch „weißen“ Blutzellen, die allgemein zur Abwehr von Krankheitserregern beitragen und in der Lage sind ins Gewebe außerhalb des Blutkreislaufs einzudringen, trennen sich in mehrere weitere Zellarten auf:

1. Die *Eosinophilen Granulozyten* (Durchmesser 12-20  $\mu\text{m}$ ) machen ca. 1-5 % der Leukozyten aus und nehmen an allergischen und Entzündungsreaktionen teil, sowie am Fressen von Bakterien und Geweberesten. Sie treten vor allem in Geweben auf, die mit der äußeren Umgebung in Kontakt stehen, wie Nasenschleimhaut und Magen.
2. Die *Basophilen Granulozyten* (Durchmesser 10-12  $\mu\text{m}$ ) machen 0.5-1 % der Leukozyten aus und wandern zu Entzündungsherden, wo sie an allergischen Reaktionen teilnehmen.
3. Die *Neutrophilen Granulozyten* (Durchmesser 12-20  $\mu\text{m}$ ) machen 50-80 % der Leukozyten aus und nehmen an schweren Entzündungen und am Fressen von Bakterien oder anderen kleinen Fremdkörpern teil. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden sie als **PMN-Zellen** bezeichnet (*polymorphonuclear neutrophils*).
4. Die *Monozyten* (Durchmesser 16-28  $\mu\text{m}$ ) machen 2-8 % der Leukozyten aus und sind für das Fressen von Bakterien verantwortlich. Sie können zu *Macrophagen* differenzieren, die sich zu mehrkernigen Riesenzellen zusammenschließen und die Fremdkörper bekämpfen, die für andere Zellen zu groß sind. In dieser Arbeit werden Monozyten im weiteren **PBMC-Zellen** (*peripheral blood mononuclear cells*) genannt.

Bei der Aktivierung solcher Blutzellen werden von ihnen verschiedene Proteine freigesetzt (Wachstumsfaktoren, Cytokine, und andere)<sup>[118]</sup>, die als Nachweise ihrer Aktivität fungieren können.



### 1.5.2 Einbringung von Biomaterialien in den Körper

Jede Beschädigung des Organismus löst Reparaturmechanismen aus, um verloren gegangene Körperfunktionen wiederherzustellen. Die Regenerationsfähigkeit ist jedoch nicht unbegrenzt, weshalb bei größeren Beschädigungen Unterstützung notwendig ist. Zum Beispiel bei Knochenbrüchen können solche Unterstützungen Schienen, außen oder direkt auf den Knochen fixiert, oder Knochenersatzmaterial für den Knochendefekt sein. Jedes Fremdmaterial löst im Körper eine Kaskade von Reaktionen aus, deren Ziel ist, den Fremdkörper entweder zu entfernen oder zu integrieren. Zur Minimierung von Abwehrreaktionen werden vornehmlich die so genannten Biomaterialien<sup>[119]</sup> implantiert. Biomaterialien sind definiert als nicht lebende, biokompatible Werkstoffe in Kontakt mit lebendem Gewebe, die Körperfunktionen unterstützen oder ersetzen.

Seit 1986 wird Biokompatibilität wie folgt definiert: „Die Fähigkeit eines Materials, in einer spezifischen Anwendung eine geeignete Wirtsantwort hervorzurufen“<sup>[120]</sup>. Dies bedeutet nicht, dass ein biokompatibles Material überhaupt nicht toxisch ist oder keinerlei negative Reaktionen auslöst, sondern dass seine Eigenschaften zum Erreichen eines bestimmten Zweckes geeignet sind. Zu den allgemeinen Eigenschaften von Biomaterialien gehört, dass sie keine Entzündungs- oder Infektionsreaktion auslösen und sie während der Einsatzzeit ihre funktionalen Eigenschaften nicht verlieren<sup>[121]</sup>. Sie setzen keine gefährlichen Mengen toxischer Stoffe durch Biodegradation (Abbau durch lebenden Organismus) frei. Zur Biodegradation gehören z. B. Korrosion von Metallen und Auflösung von Calciumphosphaten.

Biomaterialien zum Knochenersatz können in verschiedene Gruppen unterteilt werden, deren Grenzen allerdings nicht scharf sind:

1. Biotolerante Materialien werden vom Gewebe eingekapselt (*fibrous capsule*), um den Organismus vor dem Fremdkörper zu schützen<sup>[122]</sup>.
2. Bioinerte Materialien (Ti, Al, Teflon) treten praktisch nicht in Wechselwirkung mit dem sie umgebenden Gewebe, es wächst an der Materialoberfläche entlang. Diese mechanische Fixierung kann durch Aufrauung der Oberfläche noch erhöht werden. Von Größe der dabei entstehenden Mikroporen hängt die Stärke der Fixierung ab. Die Bioinertheit wird oft durch Oxidschichten ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) auf der Materialoberfläche verursacht<sup>[123]</sup>.
3. Bioaktive Materialien (Calciumphosphat bzw. CaP, Biogläser, Polymere) sind in der Lage, mit lebendem Gewebe Bindungen einzugehen<sup>[124]</sup>, sodass eine bioaktive

Fixierung entsteht<sup>[125, 126]</sup>. Die Bioaktivität kann auch durch biologische Funktionalisierung erreicht werden. Auf der Materialoberfläche entsteht eine Hydroxylapatitschicht, in die Collagenfasern eingebaut sind. Diese Schicht kann durch Biodegradation von CaP oder Kristallisation aus dem Blutserum entstehen<sup>[124]</sup>. Dadurch wird das anorganische Implantat mit dem biologischen System fest verbunden. Die dabei entstehende Grenzschicht zwischen Implantat und Knochen ist identisch mit der natürlichen z. B. zwischen Knochen und Sehnen<sup>[86, 127]</sup>.

4. Bioresorbierbare Materialien (HAP+TCP, Polyester) können vom Körper aufgelöst und durch neuen Knochen ersetzt werden. Bei der Resorption dürfen allerdings keine für den Körper schädlichen Produkte wie saure Monomere bei Polyestern entstehen. Die Resorptionsgeschwindigkeit ist abhängig vom Zustand des jeweiligen Organismus, dasselbe Material kann in verschiedenen Organismen unterschiedlich schnell abgebaut werden<sup>[128]</sup>.

Implantatmaterialien können osteokonduktive und osteoinduktive Eigenschaften haben. Mit *Osteokonduktivität* bezeichnet man einen Leitschieneneneffekt für das Knochenwachstum entlang der Implantatoberfläche, wodurch der neu gebildete Knochen exakt an diese angepasst ist. Mit *Osteoinduktivität* wird die Stimulation der Knochenneubildung durch das Implantatmaterial bezeichnet.

Für alle Implantate ist eine gute Anpassung an den Knochendefekt wichtig, damit der neu zu bildende Knochen keine zu weiten Abstände überbrücken muss. Außerdem werden durch Anpassung Bewegungen des Implantats minimiert, welche den empfindlichen Mechanismus der Knochenneubildung beeinträchtigen könnten<sup>[129]</sup>. Bei bioinerten Materialien ist dieses Risiko noch höher. Durch Mikrobewegungen kann es zur Lockerung des Implantats und damit zur Verschlechterung der mechanischen Stabilität des Gesamtsystems kommen. Dann ist die Gefahr recht groß, den Knochen durch Bewegung des Implantats zu beschädigen. Aus diesem Grund wurden poröse Implantate entwickelt, die dem Knochen das Einwachsen in ihre Poren ermöglichen (Osteokonduktivität), es ist sogar möglich, eine zusätzliche Osteoinduktivität durch Calciumphosphatbeschichtung innerhalb der Poren zu erreichen<sup>[130]</sup>. Porengröße (100-300 µm) und Interkonnektivität der Poren sind von entscheidender Bedeutung<sup>[128, 131]</sup>. Bei zu kleiner Porengröße ist es für die Knochenzellen unmöglich, Blutkapillaren zur Versorgung des sich neu bildenden Knochenmaterials aufzubauen; zu große Poren würden durch schneller einwachsendes Weichgewebe blockiert<sup>[86]</sup>.

Die erste Reaktion des Organismus auf einen körperfremden Stoff ist eine Adsorption von Proteinen aus Blutplasma und Gewebeflüssigkeit an seine Oberfläche, an die schon

Wassermoleküle adsorbiert sind<sup>[132, 133]</sup>. Dabei ist die Rauigkeit der Implantatoberfläche von Bedeutung, da sie die weitere Proteinsynthese von adhären Zellen ändern kann<sup>[134, 135]</sup>. Die Oberflächen dürfen die adsorbierten Proteine jedoch nicht verändern bzw. transformieren, da sie in diesem Fall vom Körper als Fremdkörper angesehen werden könnten<sup>[129]</sup>. Auf die gebildete Proteinschicht setzen sich verschiedene Zellen, u. a. Thrombozyten, Leukozyten und Osteoblasten<sup>[136, 137]</sup>. Die Anlagerung von Thrombozyten ist die erste Antwortreaktion des menschlichen Körpers auf die Einbringung von Implantaten, weil dabei Kapillaren beschädigt werden und Blut austritt<sup>[117]</sup>. Das Ziel der Thrombozyten ist die Beendigung des Blutverlustes durch Thrombenbildung. Aktivierte Leukozyten, vor allem PMN-Zellen, migrieren zum beschädigten Gewebe, um potentielle Gefahren abzuwehren<sup>[138]</sup>, weshalb dort die Leukozyten-Konzentration zehnmal höher als im Normalfall ist. Die erhöhte Aktivität der Zellen kann durch freigesetzte Proteine (so genannten Mediatoren) bewiesen werden<sup>[118, 139]</sup>. In Zusammenarbeit mit anderen Zellen wird durch komplexe Prozesse der Grund für die Knochenzellen vorbereitet. Dann beginnt die Phase der Knochenneubildung, wobei die Einbringung von BMPs<sup>[87]</sup> die Differenzierung zu Osteoblasten anregt, deren Adhäsion durch die Gegenwart von Magnesiumionen (z. B. aus CaP) unterstützt wird. Die Adhäsion von Thrombozyten kann durch das Protein Fibronectin begünstigt werden. Bei Knochenimplantaten ist diese Ansiedlung gewünscht<sup>[140]</sup>, daher ist bei diesen eine raue Oberfläche von Vorteil, wohingegen orthodontische Drähte glatt produziert werden, um Proteinadhäsion und Kariesbakterienansiedlung zu minimieren. Auch Stents, die in ständigem Blutkontakt sind, neigen bei hoher Proteinadsorption durch zu raue Oberfläche zur Calcifizierung.

Es wird jedoch nicht nur das Gewebe beeinflusst, sondern u. U. auch das Implantat selbst durch die korrosive Umgebung (Blut, Lymphe, Knochenflüssigkeit, etc.) des Körpers angegriffen. Es kommt außerdem durch Belastung des Gesamtsystems zur Ermüdung des Implantats und eventuell zur Freisetzung von kleinen Stücken bzw. Ionen des Implantatmaterials aus der Oberfläche.

Zu den oben genannten Interaktionen von Organismus und Implantat können andere Reaktionen hinzukommen. Durch mangelhafte Sterilität oder im Körper existierende Bakterien (Epidermalis, Streptokokken, Enterokokken, etc.)<sup>[141]</sup> können Infektionen bzw. Entzündungen im Implantatraum entstehen. Bei Infektionen können selbst Proteine wie BMPs keine Knocheninduktion mehr herbeiführen<sup>[142]</sup> und das Implantat kann abgestoßen werden. Wegen der Fähigkeit der Calciumphosphate zu hoher Proteinadsorption und Zelladhäsion treten bei diesen solche Infektionen bevorzugt auf, da auch die Adhäsion von Bakterien leicht

möglich ist<sup>[143]</sup>. Deswegen ist es von Vorteil, in die Calciumphosphate schon vor Implantation Antibiotika einzubringen, um einen im Vergleich zur Injektion hohen lokalen Wirkungsgrad zu erzielen. Es können auch kleine Mengen bakterizider Metalle wie Silber eingebaut werden<sup>[144, 145]</sup>.

Aus all den oben genannten Gründen war es im Rahmen dieser Arbeit wichtig, biologische Untersuchungen zu Reaktionen von Zellen (PMN, PBMC u. a.) auf verschiedenen Implantatmaterialien durchzuführen. Dazu kamen Versuche Antibiotika und Knochenwachstumsfaktoren in Calciumphosphatbeschichtungen einzubringen und deren Freisetzung zu messen.

## 1.6 Unterschiedliche Implantatmaterialien

### 1.6.1 Knochenersatzmaterialien im Allgemeinen

Um die Funktion des Knochens als Stützgewebe des Körpers durch Knochendefekte nicht zu verlieren, müssen solche Defekte aufgefüllt werden. Die Füllmaterialien können entweder vom Körper resorbierbar sein oder als Dauerimplantate im Körper verbleiben. Zusätzlich werden Implantate unterschieden in Ultrakurzzeitimplantate (Skalpelle, Katheter), Kurzzeitimplantate (Schrauben, Zahnspangen) und Langzeitimplantate (Hüftendoprothesen, Zahnimplantate)<sup>[146]</sup>.

Prinzipiell gibt es zwei Arten von Implantatmaterialien:

Natürliche Implantatmaterialien aus menschlichem, tierischem oder pflanzlichem Gewebe, die nach geeigneter Vorbehandlung nicht zu Abstoßungsreaktionen führen.

Eine Methode zur Auffüllung eines Knochendefekts ist der Einsatz von Eigenknochen bzw. *autogenem* Knochen („Gold-Standard“)<sup>[147]</sup>, z. B. aus dem Beckenkamm, wodurch eine Abstoßung nahezu ausgeschlossen ist, da es sich um Gewebe des eigenen Körpers handelt. Ein möglicher Nachteil ist jedoch, dass der Knochen am Entnahmeort schwächer wird und der betreffenden Person weitere Schmerzen zugefügt werden<sup>[148]</sup>.

Menschlicher bzw. *allogener* Knochen von anderen Spendern sowie tierischer bzw. *xenogener* Knochen kann Krankheitserreger des Spenders enthalten<sup>[149, 150]</sup>. Selbst nicht infektiöses Material ist jedoch immunogen, d. h. das Immunsystem bekämpft die fremde organische Substanz, außer es wird medikamentös daran gehindert, was neue Nachteile mit sich bringt. Dies lässt sich vermeiden, indem die gesamten organischen Bestandteile, z. B. durch Ausbrennen, entfernt werden, so dass ausschließlich anorganisches Calciumphosphat mit poröser Knochenstruktur zurückbleibt. Solche aus Rinderknochen gewonnenen Ersatzstoffe sind unter den Namen Endobon<sup>®</sup> (Merck) und Cerabone<sup>®</sup> (Coripharm) (siehe Abb. 1.6.1.1) auf dem Markt gekommen. Endobon<sup>®</sup> setzte sich nicht durch, weil der Hydroxylapatit aufgrund einer zu hohen Kristallinität auch nach 4 Jahren kaum vom Körper resorbiert war<sup>[151]</sup>. Dazu kam eine bis zu 1 %ige Verunreinigung von sehr schlecht zu resorbierendem Calciumoxid, die zwischen den Hydroxylapatitkristallen eingebaut war und so die Stabilität des Implantats beeinträchtigte. Diese Verunreinigung konnte bei Cerabone<sup>®</sup> behoben werden.

Eine Forschergruppe aus Australien<sup>[152]</sup> hat auch Experimente unternommen, Pflanzenfasern als Knochenersatzmaterial zu verwenden. Diese aus dem Eukalyptusbaum gewonnenen Cellulosefasern besitzen eine ähnliche Porosität wie menschlicher Knochen und weitere nützliche Eigenschaften. Allerdings ist nicht davon auszugehen, dass diese noch in den Anfängen steckende Forschung jemals in größerem Maßstab eingesetzt wird, sie wird hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt.



**Abbildung 1.6.1.1** Ersatzstoffe Cerabone<sup>®</sup> (aus Rinderknochen) und Cerasorb<sup>®</sup> (aus  $\beta$ -TCP).

Zu den natürlichen kommen künstliche Implantatmaterialien, die sich in die Gruppen Keramiken, Polymere, Metalle und Komposite (Verbundwerkstoffe aus den ersten drei) unterteilen.

Keramiken können ebenso wie einige Polymere entweder bioinert oder biodegradierbar sein<sup>[153]</sup>. Bioinerte Keramiken wie Aluminium- oder Zirkoniumoxid<sup>[154, 155]</sup> zeichnen sich durch eine große Härte aus, allerdings können diese bedingt durch ihre Sprödigkeit auch je nach Einsatzort schnell zerbrechen. Außerdem sind sie oft nur sehr schlecht zu bearbeiten oder gar zu verformen<sup>[7, 47]</sup>. Ihr heutiges Haupteinsatzgebiet liegt bei Gelenkköpfen und – pfannen von Endoprothesen. Obwohl sie dort sehr glatt poliert und aneinander genau angepasst sind, ist ihr Materialabrieb immer noch 10-20-mal höher als in einem natürlichen Oberschenkelgelenk.

Biodegradierbare Calciumphosphatkeramiken, deren Härte meist für einen Einsatz als Knochenersatzmaterial ausreicht, erlauben dem Knochengewebe ein An- oder sogar Einwachsen und langsame Auflösung des Implantats, welches so schließlich durch neuen Knochen ersetzt wird. Durch die unterschiedlichen Löslichkeiten der vielen Calciumphosphate werden Versuche unternommen, um die Degradationsgeschwindigkeit im Vergleich zum Knochenwachstum zu optimieren. Die häufigsten<sup>[72]</sup> Calciumphosphatkeramiken sind der schwerlösliche Hydroxylapatit (HAP) und das leichter lösliche  $\beta$ -TCP<sup>[156]</sup> (z.B. Ersatzstoffe aus  $\beta$ -TCP Firma Cerasorb<sup>®</sup>) (siehe Abb. 1.6.1.1). Ein

Gemisch aus beiden, so genanntes biphasisches Calciumphosphat (BCP)<sup>[36]</sup>, wird ebenfalls als Knochenersatzmaterial untersucht. Es werden poröse CaP-Keramiken z. B. aus HAP verwendet<sup>[157]</sup>, in denen verschiedene Zusätze ihre Biokompatibilität erhöhen können<sup>[158]</sup>. Auch dichte HAP-Keramiken werden verwendet<sup>[159]</sup>.

Zu den bioaktiven und teilweise bioresorbierbaren Keramiken gehören die Biogläser<sup>[160]</sup>. Sie bestehen vor allem aus SiO<sub>4</sub>- und PO<sub>4</sub>-Tetraedern, die von verschiedenen Kationen, z. B. Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, abgesättigt werden<sup>[161]</sup>. Sie finden ihre Verwendung vor allem in der oralen Chirurgie<sup>[162, 163]</sup>. Die Bezeichnung Gläser leitet sich ab aus ihrer fehlenden Fernordnung, was bei Röntgenbeugungsuntersuchungen festzustellen ist. Ihre bioaktiven Eigenschaften hängen, ebenso wie die mögliche Bioresorbierbarkeit, maßgeblich von ihrer chemischen Zusammensetzung ab. Durch die mögliche Abgabe von Ca- und Phosphationen unterstützen die Biogläser aktiv das Knochenwachstum, welches auf ihrer Oberfläche ohnehin schon gut möglich ist. Ihre Degradation ist jedoch langsamer als die der meisten Calciumphosphate.

Zu den schon beschriebenen meist recht harten Werkstoffen kommt noch die Klasse der Polymere, deren Eigenschaften (Elastizität, Biodegradierbarkeit, Biokompatibilität usw.) sich zumeist sehr gut einstellen lassen<sup>[164, 165]</sup>, um für verschiedene Anwendungen von Nutzen zu sein. Beispiele aus der mittlerweile extrem weiten Gruppe<sup>[166]</sup> der Polymere sind das bioinerte Teflon für künstliche Adern, biodegradierbare Polyester wie PGA und PLA für Knochenersatz und Wirkstofffreisetzung und PMMA für Knochenzement, um nur einige zu nennen.

Zum Knochenersatz werden auch metallische Werkstoffe<sup>[167]</sup> eingesetzt (siehe Abb. 1.6.1.2), deren mechanische Eigenschaften die der Keramiken und Polymere ergänzen oder ersetzen. Metalle sind je nach Element und Legierung belastbarer oder elastischer als andere Werkstoffe und können daher sogar komplette Knochen ersetzen (Endoprothese) oder im Kiefer als Fixierungsstifte für künstliche Zähne dienen. Dazu können sie zur genauen Bestimmung ihrer Eigenschaften gut analysiert und charakterisiert werden, was z. B. bei Polymeren ein großes Problem sein kann. Metalloberflächen können auch zur Verbesserung der Biokompatibilität funktionalisiert werden, z. B. mit Calciumphosphaten<sup>[167]</sup>. In der Chirurgie werden zurzeit verschiedene Metalle bzw. Legierungen verwendet wie Titan, Ti6Al4V, Co-Cr-Legierungen, rostfreier Stahl und andere<sup>[121, 168, 169]</sup>. Wichtig bei der Verwendung von Metallen ist ihr Verhalten in der korrosiven Umgebung des Körpers<sup>[170-172]</sup>. Besonders Titan und seine Legierungen zeigen gute Korrosionsbeständigkeit<sup>[173]</sup>.



**Abbildung 1.6.1.2** Mit Calciumphosphat beschichtete Hüftendoprothese und Kieferimplantate

Bei allen oben genannten modernen Implantatwerkstoffen für den Knochenersatz und auch für andere Anwendungen muss auf drei Kriterien geachtet werden:

Die mechanischen Eigenschaften dürfen von denen des Knochens (oder eines anderen Einsatzortes) nicht zu weit abweichen und die chemischen und auch die biologischen Eigenschaften dürfen nicht zu negativen Folgen für den Körper führen<sup>[174, 175]</sup>.

Dazu kommt noch der nicht zu unterschätzende Faktor des Preises. Ein Implantat mit nahezu perfekten Eigenschaften wird trotzdem keine breite Anwendung finden, wenn seine Herstellung zu teuer ist.

Das Hauptthema dieser Arbeit ist die Untersuchung metallischer Implantate und deren Funktionalisierung, deshalb soll im Folgenden näher auf Metalle eingegangen werden.

## 1.6.2 Historische Entwicklung von metallischen Implantatwerkstoffen

Schon in der Antike gibt es Beispiele für den Einsatz von Metallen zum Knochenersatz, z. B. eine Goldplatte als Schädelknochen im alten Griechenland. Im Spätmittelalter wurden Gold, Bronze oder Eisen in Form von Platten oder Drähten in den Körper eingebracht, um bei schweren Knochenverletzungen Bruchstücke zu fixieren. Es gab auch keine Alternativen, denn zu dieser Zeit waren keine anderen ausreichend harten und dabei bearbeitbaren Materialien bekannt.

Erst gegen Mitte des 19. Jahrhunderts wurde wissenschaftlich untersucht, ob diese Stoffe für den Körper verträglich sind. In dieser Zeit wurden die Giftigkeit von Blei und die Inertheit von Platin und Gold entdeckt.

Ende des Jahrhunderts wurde auch festgestellt, dass Silberdraht antiseptische Eigenschaften besitzt, also entzündungsfördernde Bakterien abgetötet werden, ohne dass der Körper Schaden nimmt.



Anfang des 20. Jahrhunderts wurden viele Standardmetallen mit verschiedensten Beimengungen legiert, um ihre mechanischen Eigenschaften wie Zähigkeit und Bruchfestigkeit zu verbessern. Dazu kamen Verbesserungen der chemischen Eigenschaften wie der Korrosionsbeständigkeit (1919: rostfreier Stahl von Krupp). Da besonders unter Belastung durch die Entstehung von Mikrorissen viele dieser Legierungen jedoch toxische Partikel oder Ionen freisetzen, wurde nach ungiftigen und stabilen Materialien gesucht. Ende des 20. Jahrhunderts<sup>[176]</sup> kamen vor allem die Edelmetalle Au, Pt, Pd, Ru und andere in Frage, sowie die passivierenden Ti, Ta, Nb, Zr und andere<sup>[174]</sup>.

Bei all diesen Metallen sind die unter Umständen vom korrosiven Medium des Körpers herausgelösten Ionen oder durch mechanische Belastung abgetrennten Partikel nicht schädlich für den Organismus<sup>[177]</sup>.

### 1.6.3 Titan

Nach dem zweiten Weltkrieg wurden günstige mechanische, chemische und biologische Eigenschaften beim Titan gefunden<sup>[178]</sup>, es sollte jedoch noch einige Jahrzehnte dauern, bis sich Titan tatsächlich in der Medizin durchsetzte. Dies lag zum einen an seinem relativ hohen Preis und zum anderen daran, dass sich Titan zwar mechanisch bearbeiten, aber nur sehr schlecht Schmelzen oder Gießen lässt, da sich bei Luft- oder Wasserkontakt eine nur wenige Nanometer dicke<sup>[179]</sup>, passivierende Oxidschicht, meist in der Phase Anatas<sup>[178]</sup>, bildet. Gerade diese Titandioxidschicht, in die auch andere Ionen aus der Lösung eingebaut sein können, ist für die medizinisch erwünschten guten Eigenschaften verantwortlich. Die Schmelztemperatur des Titan liegt bei 1678 °C und es kann in zwei Kristallstruktur auftreten: Unter 882.5 °C in einer hexagonalen Struktur ( $\alpha$ -Phase), die für die medizinische Anwendung wegen ihrer größerer Korrosionsbeständigkeit bevorzugt ist. Oberhalb dieser Temperatur tritt eine kubisch zentrierte Struktur ( $\beta$ -Phase) auf<sup>[180]</sup>. Die Legierungen des Titans können beide Phasen enthalten. Für den Fall einer Entzündung in Gegenwart eines Titanimplantats<sup>[181]</sup>, die mit einem starken pH-Abfall einhergeht, ist wichtig, dass Titan in einem weiten pH-Bereich die passivierende Oxidschicht bildet<sup>[177]</sup>. Ihre Zusammensetzung variiert von der Oberfläche nach innen, dort werden statt  $\text{TiO}_2$  auch Oxide mit niedrigeren Oxidationsstufen des Titans gefunden, z. B.  $\text{Ti}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}$  und  $\text{Ti}_2\text{O}$ ; außerdem ist als nicht bevorzugte Konkurrenzreaktion die Entstehung von  $\text{TiH}$  möglich. Bei mechanischer Beanspruchung entstehende Risse oder andere Verletzungen der Schicht werden innerhalb von Millisekunden durch Nachbildung der Schicht wieder verschlossen. Trotzdem kommt es in dieser kurzen Reparaturphase zu einer

leichten Degradation des Titan<sup>[182]</sup>, wodurch Titanionen in den Organismus gelangen, diesen jedoch nicht schädigen<sup>[183]</sup>. Sowohl Korrosion als auch Hydrolyse des Titans sind beide nur mit einem kleinen Elektronenfluss verbunden, weshalb kein negativer elektrochemischer Effekt auf umgebendes Gewebe ausgeübt wird. Auch die Entstehung von Titanhydroxidionen wie  $\text{Ti}(\text{OH})_3^+$  und andere durch Hydrolyse ist selten, sie liegen daher in sehr kleinen Konzentrationen vor<sup>[184]</sup>. Da auf der Oxidschicht werden Hydroxidionen als Lewisbasen und Hydroniumionen als Lewissäuren adsorbiert, wobei der isoelektrische Punkt bei pH 6.2 liegt, also  $\text{OH}^-$  und  $\text{H}^+$ -Ionen in gleicher Konzentration vorliegen. Die isoelektrischen Punkte anderer Metalloxide wie  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und  $\text{SiO}_2$  sind mit 3.0, 9.0 und 2.2 wesentlich weiter vom physiologischen Bereich entfernt<sup>[185]</sup>, weshalb dort die Adsorption von Zellen oder Makromolekülen nur schwer möglich wäre. Die eigentliche Biokompatibilität des Titans geht also von seiner Oxidschicht aus<sup>[133]</sup>.

Metall/Legierung	E-Modul, GPa
Co-(19-30Cr)-(0-10Mo)-(0-37Ni)	200-230
Fe-(17-20Cr)-(12-14Ni)-(2-4Mo)	200
$\alpha$ -Titan	105
$\alpha/\beta$ -Ti-6Al-4V	88-116
Ti-6Al-7Nb	108
Ti-15Mo-3Nb	79

**Tabelle 1.6.3.1** Elastizitätsmoduli einiger Metalle und ihrer Legierungen (aus Lit.<sup>[186, 187]</sup>)

Desweiteren ist die Elastizität von Titan (E-Modul: 100 GPa) höher als die von rostfreiem Stahl (E-Modul: 200 GPa) oder Co-Cr-Mo-Legierung (E=200-230 GPa)<sup>[187]</sup> und damit dem von spongiösen Knochen (E-Modul: 0.09 GPa) ähnlicher. Dies ist wichtig, da ein zu starres Implantat in Kontakt zum Knochen bei mechanischer Belastung zum Auftreten von starken Kräften führt. Für besonders schwere mechanische Belastungen, wie zum Beispiel bei einer Oberschenkel-Endoprothese, ist Titan allerdings noch zu weich. Deshalb wurden verschiedene Legierungen mit höherer Härte entwickelt, z. B. Ti6Al4V<sup>[188]</sup>, die allerdings immer noch die günstige passivierende Titandioxidschicht bilden. Der Elastizitätsmodul dieser Legierung in Abhängigkeit von Nb-Zugabe kann zwischen 55-110 GPa liegen<sup>[187]</sup>.

Die Möglichkeit von Geweben, Implantate aus Titan und titanhaltigen Legierungen zu umschließen oder bei porösen Implantaten sogar zu durchwachsen, ist ein weiterer Grund für den immer weiteren Einsatz von Titan als Implantatwerkstoff<sup>[189, 190]</sup>. Dies lässt sich noch verbessern, indem die Oberfläche aufgeraut<sup>[191]</sup> oder (noch besser) biologisch funktionalisiert

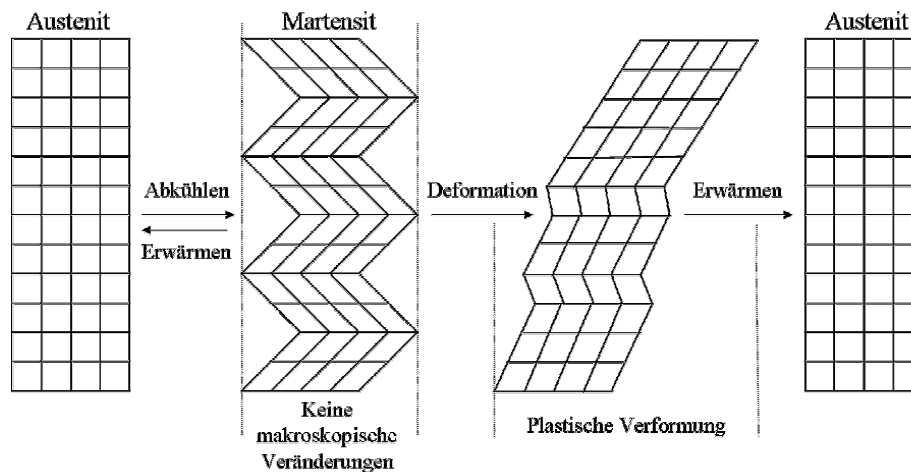
wird. Dies bedeutet, dass über verschiedene Molekülschichten auf den Metallen bioaktive Oberflächen entstehen, an die das Gewebe, z. B. durch Adhäsion von Knochenzellen, gut anwachsen und sich in der Folge neuer Knochen bilden kann<sup>[192, 193]</sup>. Eine weitere Methode zur Verbesserung der Biokompatibilität von metallischen Oberflächen ist die Beschichtung mit Calciumphosphaten. Siehe dazu Kapitel 1.6.6.

#### 1.6.4 NiTi

NiTi, eine Titanlegierung aus ca. 50 % Titan und 50 % Nickel, wird seit Beginn der 1990er Jahren aufgrund seiner außergewöhnlichen Eigenschaften ebenfalls in der Medizin verwendet. Der Handelsname Nitinol<sup>®</sup> (steht für Nickel Titanium Naval Ordnance Laboratory, dem Ort seiner Entdeckung) wurde 1962 von Buehler et al. in White Oak, Maryland (USA) erstmals synthetisiert<sup>[194]</sup>.

NiTi ist eine Formgedächtnislegierung, was bedeutet, dass unter bestimmten Voraussetzungen mechanisch verformte Metallstücke von selbst in ihre ursprüngliche Geometrie zurückkehren, der so genannte Formgedächtniseffekt<sup>[194]</sup>. Dieser beruht auf einer Phasenumwandlung, die entweder thermisch oder mechanisch herbeigeführt werden kann. Bei Raumtemperatur liegt NiTi in einer kubischen Kristallstruktur, der Austenit-Phase, vor. Kühlt man den Stoff unter eine bestimmte Phasenumwandlungstemperatur ab, die typischerweise bei -30 °C liegt, so geht er in eine monokline Kristallstruktur über, die Martensit-Phase<sup>[195]</sup>. Nach außen ist keine makroskopische Veränderung sichtbar, jedoch entstehen regelmäßige Unebenheiten auf einer zuvor blankpolierten Oberfläche, die allerdings nur im REM zu erkennen sind. Die Phasenumwandlungstemperaturen von Austenit zu Martensit und umgekehrt lassen sich über der genauen Zusammensetzung der Legierung einstellen.

Führt man in der Kälte über mechanische Krafteinwirkung eine plastische Verformung (Biegung) herbei, so kehrt das Material bei Erwärmung auf Raumtemperatur wieder in seine ursprüngliche Geometrie zurück (Einwegeffekt)<sup>[196]</sup> (siehe Abb. 1.6.4.1).



**Abbildung 1.6.4.1** Schematische Darstellung des Einwegeffekts

Bei diesem Einwegeffekt ändern während der Abkühlung Kristallite (kleine Einkristalle, da es sich um einen polykristallinen Stoff handelt) in kubischer Struktur ihre Positionen und nehmen eine monokline Struktur ein. Ausgeübte Belastungen führen bei einzelnen Kristalliten zu neuen günstigeren Positionen zwischen den monoklinen Strukturen. Bei diesen günstigen Positionen wird eine Orientierung der Kristallite bevorzugt, so dass bei gleich bleibender Temperatur der Stoff in dieser Geometrie verharren würde. Beim Erwärmen kehren die Atome in die kubische Struktur zurück, sodass die Ausgangsgeometrie vor dem Abkühlen wiederhergestellt wird. Dies zeigt, dass der Formgedächtniseffekt nur mit einer Temperaturänderung zu erreichen ist.

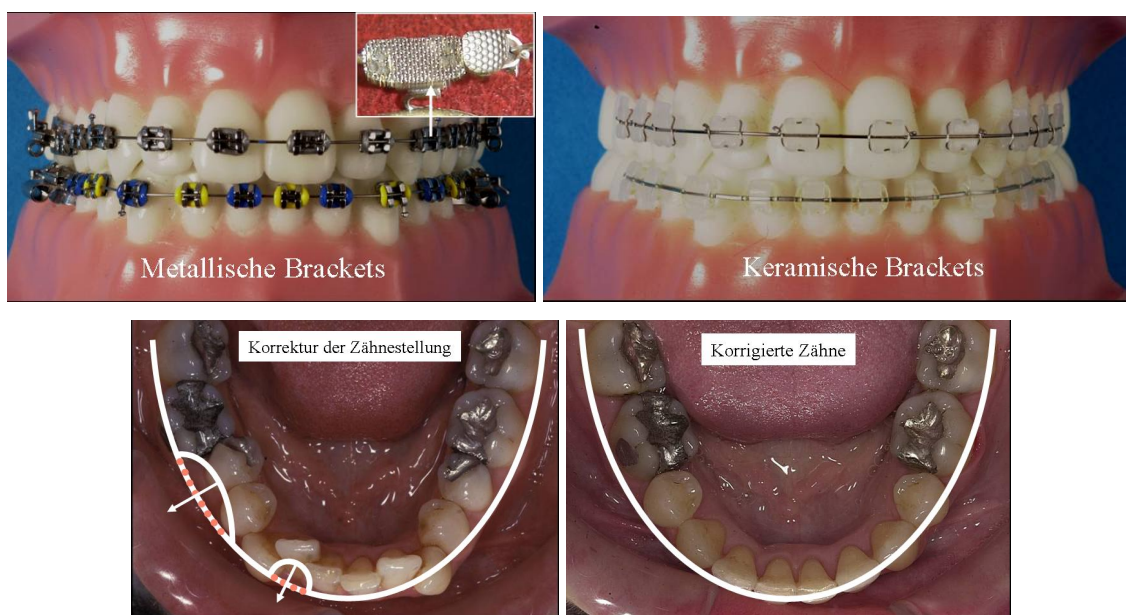
Bei bestimmter Vorbehandlung ist es möglich, das Material auch beim Abkühlen wieder in seine Ausgangsgeometrie umzuwandeln, was *Zweiwegeffekt* genannt wird. Dieser wird bei den später beschriebenen Fußklammern klinisch eingesetzt (siehe Abb. 1.6.4.6).

Eine weitere wichtige Eigenschaft von NiTi ist seine so genannte Superelastizität (hohe Biegsamkeit)<sup>[194]</sup>. Diese beruht auf dem reversiblen Umklappen zwischen kubischer und monokliner Struktur unter mechanischen Einwirkungen ohne Temperaturänderung. Im Gegensatz zu anderen Metallen, die bei ausreichender mechanischer Deformation, z. B. Verbiegen, Hämmern, Walzen, in ihrer neuen Geometrie verbleiben, kehrt NiTi bei wesentlich stärkerer Deformation in seine Ausgangsform zurück (siehe Abb. 1.6.4.3). Diese Elastizität (E-Modul 30-48 GPa)<sup>[197, 198]</sup> ist der des menschlichen Knochens noch ähnlicher als die des reinen Titans, welches schon Vorteile gegenüber Stahl besitzt.

Formgedächtniseffekt und Superelastizität dieser Legierung führen zu vielen Einsatzgebieten in der Medizin<sup>[194, 199]</sup>. In Deutschland (in Russland in noch größerem Maße) werden die NiTi-Legierungen heutzutage auf folgenden Gebieten eingesetzt:

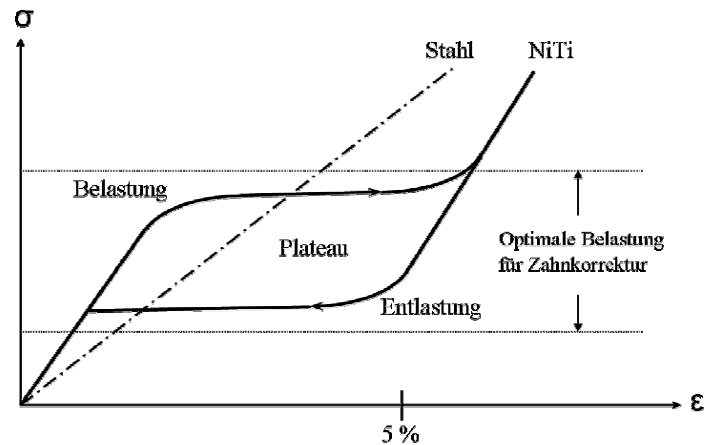
Besonders aufgrund seiner hohen Elastizität wird NiTi z. B. für orthodontische Drähte<sup>[194, 200]</sup> in der Kieferorthopädie zur Korrektur von Zahnfehlstellungen eingesetzt (schon heute besteht jeder zweite Draht zur Zahnkorrektur aus NiTi). Dazu kommt noch die günstige mechanische Rückstellkraft, die zu einer gleichmäßigeren Belastung der zu korrigierenden Zähne führt. Aus kosmetischen Gründen können die unten zu sehenden Brackets statt aus Stahl auch aus Keramik angefertigt werden (siehe Abb. 1.6.4.2).

Setzt man einen solch bogenförmigen Draht aus NiTi in den Mund ein und befestigt jeden Zahn mittels des Brackets daran, so werden gleichmäßige Drehungs-, Zug- und Druckkräfte auf die falsch stehenden Zähne ausgeübt. Die dabei auftretenden Kräfte sind geringer als bei den starrereren Stahldrähten (siehe Abb. 1.6.4.3), deshalb treten weniger Schmerzen auf und der Kieferknochen hat ausreichend Zeit sich an die Veränderung der Zahnstellung anzupassen, sodass keine Lücken am Zahnhals entstehen. Es ist nicht so oft nötig eine Zahnspange aus NiTi manuell nachzustellen, wie es bei Stahldraht der Fall ist, da aufgrund der Superelastizität der NiTi-Draht versucht, in seine ursprüngliche Geometrie zurückzukehren, bis er diese erreicht. Ist die Ursprungsform ein Bogen, so werden die mit Brackets und organischem Kleber befestigten Zähne solange in die entsprechende Richtung bewegt, bis der Draht wieder die Bogengeometrie besitzt.



**Abbildung 1.6.4.2** Oben: orthodontische Drähte mit auf der Zahnoberfläche fixierten Brackets aus Metall und Keramik. Unten: Prinzip der Korrektur von Zahnfehlstellungen (Quelle: Eppendorf-Klinik, Hamburg; Dr. A. Klocke).

Diese speziellen Eigenschaften des NiTi können gut in Spannungs-Dehnungsdiagrammen dargestellt werden (Umwandlung von der Austenit- in die Martensit-Phase unter Belastung).



**Abbildung 1.6.4.3** Schematisches Spannungs-Dehnungsdiagramm von NiTi

Im Vergleich zum linearen Verlauf der Belastungskurve für Stahl sieht man ein Plateau in der des NiTi. Dadurch wird deutlich, dass sich NiTi (je nach Geometrie und Herstellungsprozess unterschiedlich) um 2-5 % elastisch verformen lässt, bei nahezu konstanter Belastungskraft. Diese konstante Kraft ist das entscheidende Merkmal für die positiven Eigenschaften des Nitinols im orthodontischen Bereich. Auch Stahl lässt sich elastisch verformen, jedoch in einem weiteren Kraftbereich, sodass die auftretenden Kräfte sich je nach Belastung stark verändern. Deshalb müssen Stahldrähte vom Arzt nachgestellt oder gewechselt werden, da sie nach gewisser Zeit keine ausreichende Kraft mehr auf den Zahn ausüben.

Außerdem profitieren noch intravaskuläre Stents<sup>[194]</sup> (Abb. 1.6.4.4) zum Offenhalten von Adern und micro-Coils zum Verschluss von Aneurysmen im Gehirn von der hohen Elastizität. Solche Vorrichtungen werden vor allem in Adern eingesetzt, die aufgrund von Arteriosklerose beinahe verschlossen sind, was zum Tod führen würde.



**Abbildung 1.6.4.4** intravaskuläre Stents (aus Buch<sup>[201]</sup>) und schematische Darstellung des Einsatzes in Blutkapillaren

Die beiden beschriebenen Anwendungen, orthodontische Drähte und intravaskuläre Stents, sind eng mit sich bewegenden lebenden Systemen verknüpft. Deshalb ist es nötig,

Ermüdungstests durchzuführen, um die dauerhafte Einsatzfähigkeit, besonders an lebensnotwendigen Stellen wie der Koronar-Arterie, zu überprüfen. Diese Tests werden in Kapitel 2.6.3 beschrieben.

Eine weitere die Elastizität ausnutzende Anwendung in Russland<sup>[201]</sup> ist die Einlagerung von NiTi-Netzen unter größere Operationsnarben, wodurch die Belastung der Narben durch Bewegung und damit die Gefahr des Aufreißens verringert wird. Ebenfalls in Russland wird NiTi zu Fäden verarbeitet, die zum Vernähen diverser innerer Verletzungen eingesetzt werden (siehe Abb. 1.6.4.5). In Europa müssen bis zu solch weitgehenden Einsätzen jedoch noch viele Untersuchungen die Unbedenklichkeit dieser Methoden nachweisen, da der hohe Nickelanteil des NiTi Risiken für dessen langfristige Biokompatibilität birgt.

In Russland wird auch poröses NiTi eingesetzt, welches vorteilhaft für das Einwachsen von Knochenzellen in Implantate ist. Dies sorgt für eine gute Langzeitfixierung des Implantats im Knochendefekt.



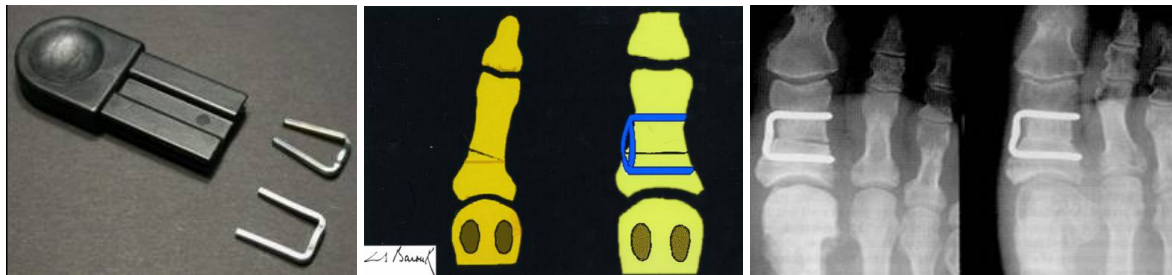
**Abbildung 1.6.4.5** A: NiTi-Netze, B: NiTi-Faden, C: poröses NiTi (<sup>[201]</sup>)

Der Formgedächtniseffekt (Zweiwegeffekt) wird in der Fußchirurgie in Form von Fußklammern<sup>[194, 202]</sup> ausgenutzt (siehe Abb. 1.6.4.6), die sich beim Einsetzen in den Körper zusammenziehen und somit Knochenstücke zusammenhalten. Diese Knochenstücke sind allerdings keine Folgen einer Fraktur, sondern eines Heraussägens von Knochenmaterial zur Korrektur von Fehlstellungen des großen Zehs, hervorgerufen vor allem durch das Tragen von engen Absatzschuhen (meist bei Frauen). Bei einem solchen Eingriff werden die in der Wärme geschlossenen Klammern vorgekühlt auf ca. -20 °C und im offenen Zustand in den Körper eingesetzt.

Die auf Abb. 1.6.4.6 zu sehende Klammer steckt in aufgebogenen Zustand in einer speziellen Halterung, durch die die Schenkel auch beim Abkühlen im gleichen Abstand gehalten werden. Dadurch können im Knochen Vorbohrungen im gewünschten Abstand durchgeführt werden, die eine exakte spätere Positionierung der Knochenstücke erlauben. Außerdem ist bei obiger Klammer noch ein Ring im Verbindungsstück zwischen den Schenkeln zu sehen,



durch dessen Zusammendrücken in der Kälte eine zusätzliche Kompressionskraft beim Erwärmen entsteht.



**Abbildung 1.6.4.6** links: Halterung mit offener und geschlossener Fußklammer; Mitte: schematische Darstellung des Einsatzes; rechts: Röntgenaufnahme des Einsatzes (<sup>[194]</sup>)

Bei den beschriebenen herausragenden mechanischen Eigenschaften von NiTi darf jedoch das vom hohen Nickelanteil ausgehende Risiko der Sensibilisierung nicht vergessen werden<sup>[203, 204]</sup>. Trotz der passivierenden Titandioxidschicht<sup>[205]</sup> müssen erst Langzeitstudien<sup>[206]</sup> die Biokompatibilität von NiTi-Implantaten beweisen, die zeitlich unbegrenzt in den Körper eingesetzt werden. Wissenschaftliche Untersuchungen zeigten unterschiedliche, negative wie positive, Ergebnisse:

Einerseits wurde festgestellt, dass NiTi-Implantate nicht sensibilisierend auf die Haut wirken<sup>[207]</sup>, dass NiTi nicht gentoxisch, aber ungünstiger als Reintitan ist<sup>[208]</sup> und dass poröses NiTi ein gutes Knocheneinwachsverhalten zeigt<sup>[209, 210]</sup>.

Andererseits zeigen Untersuchungen, dass es Anhaltspunkte für eine erhöhte Freisetzung von Interleukinen und Cytokinen (IL-1 $\beta$ <sup>[211]</sup>, IL-6, TNF- $\alpha$ <sup>[212]</sup>) gibt, die auf Entzündungen hindeuten können. Osteosyntheseschrauben aus NiTi führen zu einer lokalen und systemischen Erhöhung der Nickelkonzentration<sup>[213]</sup> so dass negative Effekte auf angrenzendes Muskelgewebe auftreten<sup>[214]</sup>.

Aus diesen Gründen wurde die Biokompatibilität von NiTi weiter untersucht, u. a. wurde mit Belastungstests die Freisetzung von Nickel festgestellt.

Bei Belastungstests in Lösung (z. B. Wasser) wird festgestellt, dass vor allem in den ersten Tagen viel Nickel freigesetzt wird und danach die Nickelkonzentration stark fällt<sup>[194]</sup>. Der Grund dafür ist, dass durch die Bewegung Risse in der TiO<sub>2</sub>-Schicht entstehen, durch Lösungsmittelmoleküle zum NiTi vorstoßen können und Korrosion verursachen, sodass Nickelionen freigesetzt werden und das zurückbleibende Titan die passivierende Schicht verstärkt. Dies ist auch der Grund für den Abfall der Nickelfreisetzung, denn wenn die Schicht zu dick wird, kann kein Lösungsmittel mehr eindringen.



Um den schützenden Effekt einer dickeren Titandioxidschicht auf NiTi zu imitieren wurde in dieser Arbeit untersucht, ob eine Calciumphosphatbeschichtung, die dazu auch das Knochenwachstum fördert, als zusätzlicher Schutz gegen Nickelfreisetzung von Knochenimplantaten aus NiTi wirkungsvoll ist (siehe Kapitel 2.1.5).

Dazu wurde in der Abteilung für Experimentelle Unfallchirurgie im Krankenhaus Bochum-Bergmannsheil von Köller das Zellwachstum auf Nitinol untersucht (siehe Kapitel 2.1.4, 2.3.4, 2.4.5, 2.5.3).

### **1.6.5 Poröses NiTi**

Spezielle poröse Materialien wie einige Keramiken oder Calciumphosphate geben den Knochen die Möglichkeit in ihre Makroporen einzuwachsen und somit eine sehr hohe Stabilität des Systems Implantat-Knochen zu erreichen<sup>[130]</sup>. Am vorteilhaftesten für das Einwachsen von Zellen ist dabei eine optimale Porengröße, die der des lebendigen Knochens ähnlich ist, ca. 100-300  $\mu\text{m}$ <sup>[215, 216]</sup>. Mit steigender Porengröße nimmt allerdings die Stabilität eines makroskopischen Körpers immer weiter ab, sodass er schließlich keine ausreichende Bruchfestigkeit mehr besitzt.

Poröse metallische und für den Menschen verträgliche Werkstoffe besitzen eine wesentlich höhere Stabilität als die gängigen Keramiken, sind aber weniger elastisch als menschlicher Knochen, was zu Problemen bei mechanischer Belastung führen kann.

Poröses NiTi hingegen besitzt (je nach Herstellungsart) eine hohe Elastizität, die etwa der von spongiösem Knochen entspricht<sup>[194, 217]</sup>.

Eine vom kanadischen Hersteller Biorthex gelieferte Probe aus Actipore<sup>®</sup> besitzt eine Makroporosität von ca. 65 % mit einer mittleren Porengröße von ca. 230±130  $\mu\text{m}$ . Das Material wurde nach der SHS-Methode (*self-propagating high-temperature synthesis*) hergestellt<sup>[218]</sup>. Dazu siehe Kapitel 1.7.2.

### **1.6.6 Metallische Implantate mit Calciumphosphatbeschichtungen**

Weil reines Calciumphosphat nur für wenige Anwendungen die nötige mechanische Belastbarkeit besitzt, werden seit einigen Jahren Calciumphosphatbeschichtungen auf metallische Körper mit dem Ziel aufgebracht<sup>[219]</sup>, deren Biokompatibilität zu verbessern.

Schon seit über hundert Jahren werden metallische Implantate in den menschlichen Körper eingesetzt, um verloren gegangene Körperfunktionen wiederherzustellen. Um Abstoßungsreaktionen zu vermeiden und die Fixierung an den Knochen zu verbessern<sup>[126]</sup>, werden die verwendeten Implantate mit Calciumphosphaten beschichtet, die dem anorganischen Anteil des Knochens ähneln. Diese dünnen Schichten ändern die Materialeigenschaften wie Härte und Elastizität nicht, die Oberfläche, die im Kontakt zum Knochengewebe steht, kann jedoch mit diesem interagieren, was im Idealfall zum Einwachsen des Knochens in die Schicht und zum Neuaufbau des Gewebes führt<sup>[126, 220]</sup>. Zumindest wird der Abstand zwischen Implantat und Knochen verringert, wodurch die Stabilität des Systems verbessert wird. Außerdem wird die mögliche Freisetzung von Metallionen unterbunden, wenn auch nicht komplett verhindert. Die Calciumphosphatbeschichtung beschleunigt die biologische Antwortreaktion des Körpers auf das ganze Implantat<sup>[221]</sup>, so dass nach der Auflösung der Schicht im Fall von Titan der Knochen eine feste Bindung mit dem Metall eingeht (biologische Fixierung). Im Tierversuch wurde gezeigt, dass die Fixierung von mit Calciumphosphat beschichteten Implantaten viermal stärker war als die von unbeschichteten Implantaten. Mit Beschichtung wurden keine Lockerungen beobachtet und die Anzahl der Infektionen sank<sup>[222]</sup>.

Dazu wirkt Calciumphosphat wegen seiner Fähigkeit Proteine zu adsorbieren als „Falle“ für die im Blut vorhandenen BMPs, die das Knochenwachstum fördern. Eine zu geringe Kristallinität der Calciumphosphatbeschichtung könnte durch zu schnelle Auflösung eine Lockerung verursachen<sup>[223]</sup>, auch die Adhäsion von Zellen ist auf amorphem Material gehemmt. Eine zu hohe Kristallinität der Schicht hingegen würde durch zu langsame Auflösung einige der gewünschten Eigenschaften, wie Ersatz der Schicht durch echten Knochen, unterbinden. Deshalb muss man die Kristallisationsbedingungen überwachen und die entstandene Schicht prüfen. Durch thermische Behandlung (700 °C) lässt sich die Kristallinität jedoch auch nachträglich noch erhöhen.

### 1.6.7 Verschiedene Beschichtungsmethoden

Es gibt verschiedene Methoden, um Calciumphosphatbeschichtungen auf metallische Körper aufzubringen<sup>[224]</sup>, die sich stark voneinander unterscheiden. Die zwei von diesen, die für diese Arbeit von Interesse waren, sollen hier kurz beschrieben werden, das Plasmaspray- und das *dip-coating*-Verfahren. Des Weiteren existieren noch *elektrochemische*<sup>[225]</sup> und *elektrophoretische* Verfahren<sup>[226, 227]</sup>, bei denen durch Anlegen einer Spannung sich

Calciumphosphat an die Anode (z. B. Titan) anlagert. Bei *chemischer Dampfabcheidung* (*chemical vapor deposition* CVD) werden flüchtige chemische Verbindungen in die Dampfphase gebracht und auf der gewünschten Oberfläche thermisch zersetzt. Zu weiteren Verfahren siehe<sup>[228]</sup>.

Beim Plasmaspray-Verfahren<sup>[228, 229]</sup>, das heutzutage der Standardweg zur Beschichtung von Hüft- und Knieendoprothesen ist<sup>[230]</sup>, wird Calciumphosphatpulver (Korngröße 20-40 µm) bei bis zu 10000 °C Grad, meist unter Argonatmosphäre, aufgeschmolzen und auf die sich drehende zu beschichtende Oberfläche abgeschieden<sup>[231, 232]</sup>.

Wegen der vergleichsweise geringen Temperatur der Substratoberfläche von ca. 300 °C tritt ein sehr schnelles Abschrecken der auftreffenden Calciumphosphattröpfchen ein<sup>[233]</sup>, wodurch neben HAP mehrere Phasen entstehen (TCP, TTCP, CaO, ACP)<sup>[7, 234, 235]</sup>, die nicht im thermodynamischen Gleichgewicht stehen. Die Tröpfchen schmelzen die Oberfläche auf und es entsteht eine Verzahnung der stark haftenden porösen (unter 2 %) Calciumphosphatschicht mit dem Substrat; beim Erkalten entstehen tropfenförmige Oberflächenmorphologien<sup>[233]</sup>. Die Dicke der entstehenden Beschichtung sollte bei 50-80 µm liegen<sup>[46]</sup>; da die Schicht jedoch aus ungleichmäßigen Tropfen besteht, ist dies nicht immer gegeben. Eine dickere Beschichtung kann wegen schlechterer Adhäsion zur metallischen Oberfläche zum Abplatzen führen und als Ergebnis zur Lockerung des Implantats<sup>[236]</sup>.

Nachteile der Methode sind der hohe apparative Aufwand und die Unmöglichkeit innere Oberflächen zu beschichten. Temperaturempfindliche Materialien wie Polymere stehen für diese Methode nicht zur Verfügung. Auch die schon erwähnten Nebenphasen des Calciumphosphats können bei Implantation aufgrund ihrer verschiedenen Löslichkeiten zu Problemen führen.

Eine weitere Methode zur Beschichtung von Metalloberflächen, aber auch von Polymeren und Keramiken<sup>[237]</sup>, mit Calciumphosphaten ist das dip-coating-Verfahren<sup>[238]</sup>. Da bei der Durchführung dieser Methode nicht so extreme Bedingungen herrschen wie beim Plasmaspray-Verfahren, lassen sich die entstehenden Calciumphosphat-Phasen besser kontrollieren<sup>[239]</sup>. Die metallische Oberfläche wird vorbehandelt (durch chemische Vorbearbeitung mit Säuren, Laugen und/oder Wasserstoffperoxid<sup>[237]</sup> oder durch Aufrauung)<sup>[240]</sup> und dann in eine übersättigte Calciumphosphatlösung gestellt. Um biologische Bedingungen zu simulieren kann die Beschichtung in SBF (*simulated body fluid*) durchgeführt werden<sup>[158, 241]</sup>, das die anorganischen Ionen des menschlichen Blutes in möglichst ähnlicher Konzentration wie in Blutserum enthält (Tabelle 1.6.7.1). Dabei entsteht kein reiner Hydroxylapatit, sondern defektbehafteter, biologischer Apatit (siehe Kapitel 1.3).

Ionen (mmol L <sup>-1</sup> )	Menschlicher Blutplasma	simulated body fluid
Ca <sup>2+</sup>	2.5	2.5
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.0	1.0
Na <sup>+</sup>	142.0	142.0
Cl <sup>-</sup>	103.0	148.0
Mg <sup>2+</sup>	1.5	1.5
K <sup>+</sup>	5.0	5.0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27.0	4.2
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.5	0.5

**Tabelle 1.6.7.1:** Zusammensetzung von Blutplasma und SBF-Lösung (nach Kokubo<sup>[237]</sup>). Salze in SBF: NaCl, KCl, NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3 H<sub>2</sub>O, MgCl<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; Puffer tris-hydroxymethyl-aminomethan (CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>; pH-Einstellung mit Salzsäure; Temperatur 36.5 °C.

Die Kristallisation auf einer Metalloberfläche soll hier am Beispiel von Titan erklärt werden: Die schützende TiO<sub>2</sub>-Schicht kann durch kochende Lauge (NaOH) angegriffen werden, sodass auf der Oberfläche Titanathydrogele NaHTiO<sub>3</sub>·n H<sub>2</sub>O entstehen<sup>[242]</sup>. Beim Eintauchen einer so chemisch aktivierten Oberfläche in SBF-Lösung bilden sich viele Ti-OH Gruppen, an denen dann Calciumphosphat auskristallisiert. Die Nukleation wird durch Austausch der aus dem Titanat wandernden Na-Ionen durch H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>-Ionen aus der SBF-Lösung beschleunigt, wobei Ionenprodukt und OH<sup>-</sup> Konzentration erhöht werden. Als Folge entsteht an der Ti-Oberfläche eine chemisch gebundene CaP-Beschichtung<sup>[243]</sup>. Durch die langsame Kristallisation entstehen zuerst Kristallkeime, sodass es den durch Verbrauch von Calcium- und Phosphat-Ionen aus der Lösung zu einem langsamen und gleichmäßigen Wachstum kommt. Das zuerst entstandene OCP wandelt sich dabei bei längerem Aufenthalt in der SBF-Lösung in carbonathaltigen Apatit um<sup>[244]</sup>. Bei Abwesenheit von CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> kann sich OCP in HAP umwandeln (siehe Kapitel 1.3). Die einige µm dicke Beschichtung hat eine plättchenförmige Morphologie und ist bei guter Vorbehandlung gleichmäßig<sup>[245]</sup>.

Ein Vorteil der *dip-coating*-Methode ist die Möglichkeit, bioaktive Wirkstoffe (z. B. Antibiotika, Proteine, u. a.) in die Beschichtung einzubringen, indem man die Stoffe einfach mit in die Lösung gibt<sup>[240]</sup>. Innere Oberflächen, die von außen nicht zu erreichen sind, können problemlos mit beschichtet werden, selbst in nicht zu kleine Poren dringt die Lösung ein und Kristallisation tritt auf. Da diese Methode bei physiologischen Bedingungen durchgeführt

wird<sup>[246]</sup>, können auch temperaturempfindliche Materialien wie Polymere beschichtet werden<sup>[237]</sup>. Durch Einstellen des pH-Werts können sowohl saure als auch basische Calciumphosphate gefällt werden, die auch schichtweise auf der Oberfläche angeordnet sind. Bei pH 7 entstehen beispielsweise außen OCP und darunter DCPD, bei pH 8 außen HAP mit darunter liegendem OCP<sup>[247]</sup>.

Nachteil ist, dass sich der obere Teil der Beschichtung relativ leicht wieder abkratzen lässt und die Probe dann wieder metallisch aussieht. Durch EDX-Messungen konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die unterste, etwa 1 µm dicke CaP-Schicht auf der Oberfläche verbleibt (siehe Kapitel 2.1.3).

## 1.7 In dieser Arbeit untersuchte Implantate für verschiedene Einsatzgebiete

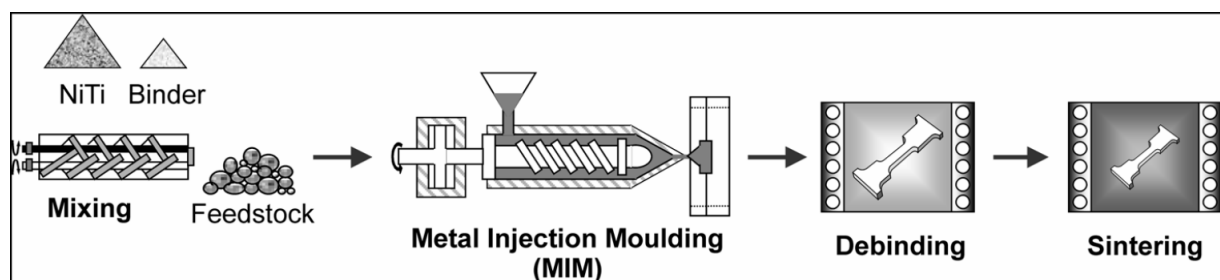
### 1.7.1 Fußklammern nach der MIM-Methode

Die in dieser Arbeit untersuchten NiTi-Fußklammern wurden im Forschungszentrum Jülich in der Abteilung von Prof. Dr.-Ing. D. Stöver nach der MIM-Methode hergestellt.

Normalerweise werden NiTi-Formgedächtnisimplantate gegossen und durch Auswalzen, Ziehen und Schmieden in halbfertige Formen gebracht. Die endgültige Form wird durch Sägen, Bohren und durch Laser-Schneiden erreicht<sup>[248]</sup>. Diese Prozesse sind kompliziert, aufwändig und langwierig.

Deshalb wurde eine Methode gesucht, die mit einem hohen Durchsatz direkt von der Pulvermetallurgie aus funktioniert, das so genannte *metal injection moulding* (MIM)<sup>[249, 250]</sup> (siehe Abb. 1.7.1.1).

Dazu wird NiTi-Pulver zusammen mit einem Amid-Wachs und einem Polyethylen-Wachs im Volumenverhältnis 68 %; 19 %; 13 % gemischt und bei 150 °C (Bindemittel im flüssigen Zustand) in eine Gussform injiziert und danach abgekühlt und in eine Pellet-Form geschnitten. Dieser „feed-stock“ wird dann bei 150 °C in eine Form injiziert und in die gewünschte Geometrie gepresst. Anschließend wird das Bindemittel durch kurze Behandlung bei 480 °C entfernt, wobei die so genannten „green parts“ entstehen. Diese werden schließlich 5 h bei 1230 °C zum Endprodukt gesintert. Beim MIM-Verfahren liegt das Schrumpfen durchs Sintern bei ca. 10 % in allen Raumrichtungen. Dies geschieht so regelmäßig, dass die erhaltenen Formstücke nur minimale Abweichungen untereinander aufweisen.



**Abbildung 1.7.1.1** Schema des MIM-Prozesses und hergestellte NiTi-Formstücke

Mit Hilfe dieses Verfahrens können hohe Stückzahlen formgleicher Implantate mit durch die Gussform vorgegebener Geometrie hergestellt werden, z. B. Metallklammern für orthodontische Anwendungen und auch die für Zugversuche extra angefertigten NiTi-

Formstücke. Diese wurden nach dem Standardverfahren aus der Lösung mit Calciumphosphat beschichtet (siehe Kapitel 2.1.3), um die Haftung der entstandenen Beschichtung zu testen. Mittels der MIM-Methode wurden hier Prototypen der sonst nach anderen Verfahren hergestellten Fußklammern angefertigt und im Rahmen dieser Arbeit auf ihre mechanischen und biologischen Eigenschaften hin untersucht (siehe Kapitel 2.5).

### 1.7.2 Poröses NiTi nach dem SHS-Verfahren

Die in dieser Arbeit untersuchten porösen NiTi-Proben (Actipore<sup>®</sup>)<sup>[217]</sup> wurden von Biorthex Inc. (Kanada) geliefert. Dieses Material wird in Russland bereits in der klinischen Chirurgie eingesetzt<sup>[201]</sup>, z. B. als Wirbelkörperersatz. In Europa und Kanada selbst müssen noch weitere Untersuchungen die Unbedenklichkeit des hohen Nickelanteils beweisen.

Actipore<sup>®</sup> wird durch die so genannte SHS-Methode (*self-propagating high-temperature synthesis*) hergestellt<sup>[218, 251]</sup>, wobei Nickel- und Titan-Pulver in einer exothermen Reaktion zu porösem NiTi reagieren:  $\text{Ni} + \text{Ti} \rightarrow \text{NiTi} + 67 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Der Vorteil dieses Verfahrens liegt in der Steuerbarkeit der Porengröße und anderer Eigenschaften des resultierenden NiTi über die Reaktionsbedingungen. Dazu gehören die Korngröße der eingesetzten Pulver, die Vorheiz- und Zündtemperatur, der Druck der Inertgasatmosphäre und weitere. Ein Nachteil dieser Methode besteht im möglichen Auftreten von NiTi-Nebenphasen wie NiTi<sub>2</sub>, Ni<sub>3</sub>Ti oder Ni<sub>4</sub>Ti<sub>3</sub>, welche die mechanischen Eigenschaften des NiTi (Superelastizität, Formgedächtniseffekt) beeinträchtigen können.

Die eigentliche SHS-Methode besteht aus einer Reihe von Schritten<sup>[201]</sup>, die alle unter Inertgasatmosphäre ausgeführt werden müssen, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten:

1. Vakuum-Trocknung der Pulver bei ca. 350 °C
2. Dosierung im gewünschten molaren Verhältnis (normalerweise 50:50)
3. Sehr gründliches Mischen (spezieller Mixer erforderlich)
4. optional: Herstellung eines Presslings von mindestens 1 cm Durchmesser
5. Einfüllen in den SHS-Reaktor (Pulver oder Pressling)
6. Vorheizen der Mischung auf bis zu 700 °C, je nach gewünschten Eigenschaften
7. Elektrisches Zünden (mindestens 1200 °C nötig) => Einsetzen der SHS
8. Abkühlen und Herausnehmen des porösen NiTi-Stücks

Nach Angaben von Biorthex führt das dort ausgeführte SHS-Verfahren zu einer Makroporosität von 65±5 % mit mittlerer Porengröße ca. 230±130 µm. Diese Porengröße

liegt im Bereich der Größe des Osteons im Knochen (100-300  $\mu\text{m}$ ) und ist daher von Vorteil für das Einwachsen des Knochens<sup>[206, 217]</sup>. Zu kleine Poren würden die Zellen am Einsiedeln hindern und zu große Poren würden zu vielen Zellen an einem Ort Platz bieten, weshalb diese die Pore verschließen würden und ein weiteres Einwachsen ins Implantat unmöglich wäre. Die entstehenden Poren sind außerdem untereinander verbunden, was es der Körperflüssigkeit und den Knochenzellen ermöglicht, das Implantat komplett zu durchdringen. So kann der Knochen weit in das Implantat einwachsen, was durch in-vivo Experimente an Schafen gezeigt wurde<sup>[206, 217]</sup>. Dort wurde das Implantat gut fixiert und wies eine hohe Osteokonduktivität auf, wodurch es den Knochenzellen möglich war, bis ins Zentrum des Implantats vorzudringen.

Ein weiterer Vorteil des durch diese Methode hergestellten Materials Actipore<sup>®</sup> ist seine Elastizität. Diese entspricht etwa der von spongiösen Knochen, wodurch die bei mechanischer Belastung (z. B. durch Bewegung) auftretenden Kräfte beim Kompositmaterial Implantat-Knochen geringer sind.

Actipore<sup>®</sup> besitzt darüber hinaus unter physiologische Bedingungen eine ausreichend große Korrosionsbeständigkeit, so dass die möglicherweise freigesetzten Nickelionen keine allergische Reaktion auslösen. Dies wurde durch in-vivo Experimente an Schafen gezeigt, bei denen keine Abwehrreaktionen auftraten<sup>[206]</sup>.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass NiTi-Implantate bzw. poröse NiTi-Strukturen ein großes medizinisches Potential besitzen, obwohl aufgrund der Sorge vor allergischen Reaktionen durch den hohen Nickelanteil noch weitere Forschung nötig ist.

### 1.7.3 Orthodontische Drähte

Bei den vorangegangenen beschriebenen Fußklammern und porösen NiTi-Proben handelte es sich um verhältnismäßig neue Entwicklungen; orthodontische Drähte<sup>[194, 200]</sup> hingegen sind allgemein bekannt und sollen deshalb nicht in aller Ausführlichkeit beschrieben werden.

Zur Herstellung orthodontischer Drähte wird ein Barren der gewünschten Legierungszusammensetzung (in diesem Fall NiTi, CuNiTi und Stahl) mechanischen Verkleinerungsprozessen unterzogen, bei denen Wärmebehandlung notwendig ist, um den auftretenden Verhärtungen entgegenzuwirken<sup>[252, 253]</sup>. Wenn der Querschnitt ausreichend klein ist, wird er zum Erreichen einer runden Form in einer Serie von Schritten lang gezogen bis der gewünschte Durchmesser erreicht ist („Drahtziehen“)<sup>[254]</sup>. Zum Erreichen einer rechteckigen Form werden runde Drähte von Rollen ausgewalzt. Titanhaltige Legierungen tendieren



während der Bearbeitung zur Haftung an den mechanischen Bauteilen wie den Rollen und besitzen deshalb eine raue Oberfläche, verglichen mit anderen Drahtmaterialien. Diese Rauigkeiten können negative Folgen für die Bruchfestigkeit der Drähte im medizinischen Einsatz haben, da sie die Vorstufen für Mikrorisse sind.

In dieser Arbeit wurden Drähte der Firmen Ormco und GAC International Inc. (USA) untersucht.

## 1.8 Verwendete Kristallisationszusätze

Aufgrund der Möglichkeit der Einbringung von Wirkstoffen in Calciumphosphatschichten durch die in Kapitel 2.1.6 beschriebene *dip-coating*-Methode sollen die dabei verwendeten Kristallisationszusätze hier beschrieben werden.

*Antibiotika* und *Proteine* können durch diese Methoden lokal freigesetzt werden, was ihre Funktionalität steigert und Nebenwirkungen senkt. Die lokale Einbringung eröffnet neue Möglichkeiten, da manche Wirkstoffe bei oraler Verabreichung im Magen zerstört würden.

*Tenside* wurden im Rahmen dieser Arbeit als Zusatzstoffe bei Kristallisationsprozessen untersucht, da festgestellt werden sollte, inwieweit sie Einfluss auf Kristallwachstum und Keimbildung besitzen.

### 1.8.1 Antibiotika

Antibiotika sind von Mikroorganismen produzierte niedermolekulare Sekundärmetabolite, die das Wachstum anderer Mikroorganismen behindern oder sie töten. Heute werden künstliche Derivate dieser Naturstoffe ebenfalls zu den Antibiotika gezählt.

Es ist notwendig, auf diesem Gebiet immer weiter zu forschen, da die Bakterien, ob gefährlich oder harmlos, sich durch Mutationen ständig weiterentwickeln. So kommt es zur Bildung von Resistenzen, die sehr gefährlich sein können, da die Therapie mit einem wirkungslosen Antibiotikum den Körper nicht heilt. Es kann sogar zu einer zusätzlichen Schwächung kommen, wenn das verabreichte Antibiotikum das Immunsystem beeinträchtigt, sodass es nicht mit vollem Einsatz gegen den antibiotikaresistenten Erreger vorgehen kann.

Die Entwicklung von Resistenzen wird durch den übermäßigen Einsatz von Antibiotika sowohl bei Menschen, die nicht schwerkrank sind, als auch bei Tieren, um den landwirtschaftlichen Ertrag zu erhöhen, verstärkt.

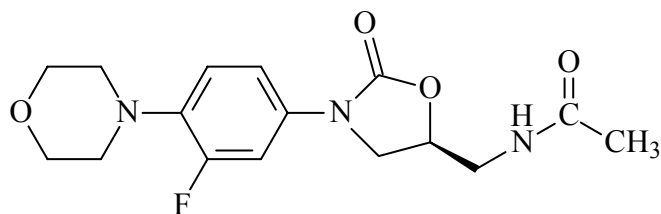
Da Antibiotika für den Körper auch gefährliche Eigenschaften haben können, ist die Dosierung sehr wichtig. Bei zu geringer Konzentration kann das Medikament seine Wirkung nicht entfalten, zu hohe Dosierungen können den Körper, z. B. die Nerven, schädigen. Da außerdem eine allergische Reaktion möglich ist, muss nach der Verabreichung von Antibiotika genau auf Symptome einer Allergie geachtet werden. Die längere Gabe desselben Antibiotikums kann im Organismus zur erwähnten Resistenzentwicklung<sup>[255, 256]</sup> führen, weshalb dann der Einsatz von stärkeren Antibiotika nötig wird.

Bei jedem chirurgischen Eingriff in den Körper besteht das Risiko eines Eindringens von schädlichen Bakterien. Bakterien sind nahezu allgegenwärtig und können praktisch nie vollständig entfernt werden. Bei der Implantation besteht noch das zusätzliche Risiko einer Infektion durch einen bakteriell kontaminierten Fremdkörper, welches durch Sterilisation weitgehend verhindert werden kann. Aufgrund der Bakteriengefahr ist es wünschenswert<sup>[257]</sup>, schon bei der Implantation auf der Oberfläche des Implantats Antibiotika mit in den Körper zu bringen, da diese im Bedarfsfall lokal ihre Wirkung entfalten können. Zur Abwehr der Bakteriengefahr von außen ist es sinnvoll Wirkstoffe in die das Implantat umschließende Schicht einzubringen. Antibiotika direkt am Entzündungsherd können Problemen vorbeugen, da die lokale Wirkstoffkonzentration so höher ist als bei konventionellen Methoden. Verabreicht man Antibiotika intravenös oder oral, so kann es zu Nebenwirkungen und Unverträglichkeiten kommen, da sie im ganzen Körper wirksam sind und nicht nur an der notwendigen Stelle. So kann es bei Knochenentzündungen wegen der langsamen Diffusionsgeschwindigkeit des Antibiotikums im Knochengewebe zu einer zu geringen Verfügbarkeit am eigentlichen Ort der Infektion kommen<sup>[255]</sup>.

Um eine Entzündung zu bekämpfen, ist die Gegenwart ausreichender Mengen des Antibiotikums vor Ort notwendig. Injektionen oder orale Einnahme (diskontinuierliche Applikation) führen zu ständig wechselnder Wirkstoffkonzentration im Blut, weswegen der therapeutisch wirksame Blutspiegel nur für kurze Zeit erreicht wird.

Um diese Konzentration dauerhaft aufrechtzuerhalten, bietet sich die langsame lokale Freisetzung an, die im Idealfall eine dauerhafte und ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration am Infektionsort garantiert. Die Freisetzung kann dabei durch einfache Diffusion, also Ab- oder Herausspülen aus der Implantatoberfläche, erfolgen. Eine langsamere Art der Freisetzung ist die Degradation von Antibiotika-haltigen bioresorbierbaren Materialien, z. B. Polymeren (Polyester, Polylactide)<sup>[258]</sup>, Knochenzementen (PMMA)<sup>[256]</sup> oder Calciumphosphaten.

Ein in diesen Arbeiten eingesetztes Antibiotikum namens Linezolid<sup>[259]</sup> hat den Vorteil, dass es gegen einige Erreger wirksam ist, die gegen andere gängige Antibiotika Resistenzen entwickelt haben. Hier sind besonders die grampositiven Kokken zu nennen, gegen die Linezolid hauptsächlich eingesetzt wird. Bei Linezolid handelt es sich um eine amphiphile schwache Base (siehe Abb. 1.8.1.1), die gut wasserlöslich, in einem pH-Bereich von 5-9 stabil und vollständig oral resorbierbar ist. Die physiologische Wirksamkeit von Linezolid beginnt bei  $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ .



**Abbildung 1.8.1.1** Strukturformel von Linezolid

Bei durchgeführten Freisetzungsversuchen mit Linezolid (siehe Kapitel 2.1.7) wurde dessen Freisetzungskinetik untersucht.

## 1.8.2 Proteine

*Proteine* bzw. Eiweiße sind natürlich vorkommende Polymere aus mindestens 100 Monomereinheiten, bei denen es sich um etwa 20 verschiedene Aminosäuren handelt. Unter 100 Aminosäurebausteine bilden die Polypeptide.

Aufgrund ihrer vielfältigen wichtigen Funktionen im menschlichen Körper sind Proteine interessante Zusatzstoffe zur Kristallisation. Mit ihrer Hilfe lassen sich beispielsweise Zellaktivität und –adhäsion verbessern oder sogar die Entwicklung von Knochenzellen anregen (BMPs). Proteine können die knochenbildenden Zellen (Osteoblasten) bei der Rekonstruktion des Knochenmaterials und die knochenabbauenden Zellen (Osteoklasten) bei der Auflösung der Calciumphosphatschicht unterstützen, sodass der Heilungsprozess beschleunigt wird. Aufgrund seiner herausragenden Eigenschaften wurde in dieser Arbeit versucht, BMP zusammen mit Calciumphosphaten zu fällen. Für nähere Beschreibung von BMP siehe Kapitel 1.4.1, zur Freisetzung siehe Kapitel 2.1.7.

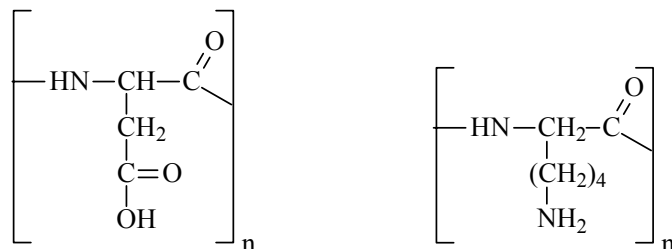
## 1.8.3 Polypeptide

Mit Polypeptiden werden Moleküle bezeichnet, die aus 10-100 Aminosäuren aufgebaut sind, welche über Peptidbindungen miteinander verknüpft sind. Der einzige Unterschied zu Proteinen ist die geringere Anzahl an Monomeren, deswegen sind ihre Eigenschaften größtenteils gleich. Sie können wie Proteine Zusatzstoffe bei der Kristallisation von Calciumphosphaten sein.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Einflüsse zweier Polypeptide auf das Wachstum von Fluorapatit untersucht (siehe Kapitel 2.2.9).

Polyasparaginsäure besitzt aufgrund ihrer Monomere in Lösung viele Carboxy-Gruppen, wodurch ein negativ geladenes Polypeptid entsteht.

Polylysine besitzt im Gegensatz zur Polyasparaginsäure viele Aminogruppen, die ein positiv geladenes Polypeptid bewirken.



**Abbildung 1.8.3.1** Strukturformeln von Polyasparaginsäure (links) und Polylysine (rechts)

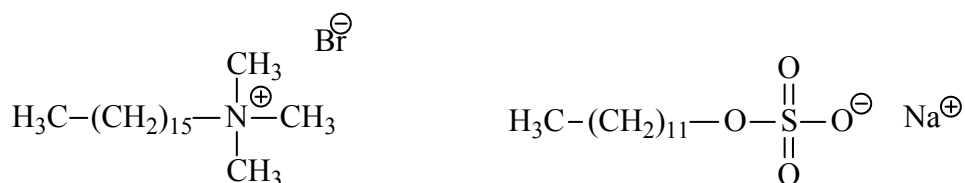
### 1.8.4 Tenside (CTAB, SDS, Triton)

Tenside sind allgemein Stoffe, die in Lösung die Grenzflächenspannung herabsetzen. Tenside besitzen als charakteristische Strukturelemente einen *hydrophilen* „Kopf“, meist eine polare funktionelle Gruppe und einen *hydrophoben* „Schwanz“, meist eine unpolare Kohlenwasserstoffkette. Die Löslichkeit hängt davon ab, ob Hydrophilie und -phobie überwiegen.

Löst sich ein Tensid in Wasser reichern sich die Moleküle zunächst an der Oberfläche an und richten sich so aus, dass die hydrophoben Gruppen aus dem Wasser herauszeigen. Ist die Oberfläche vollständig gesättigt kommt es innerhalb der Lösung zur Bildung von *Micellen*, Aggregaten bei denen die polaren Gruppen eine äußere Kugelschale bilden und die hydrophoben Reste innen liegen. Die Micellkonzentration oder CMC-Wert zeigt dabei an, ab welcher Konzentration in Lösung sich Micellen bilden. Diese Micellisierung begründet die Fähigkeit der Tenside, Stoffe in einem Medium zu lösen, in dem sie eigentlich unlöslich sind. Die Tenside werden abhängig von der chemischen Natur ihrer hydrophilen Gruppe in vier Untergruppen eingeteilt:

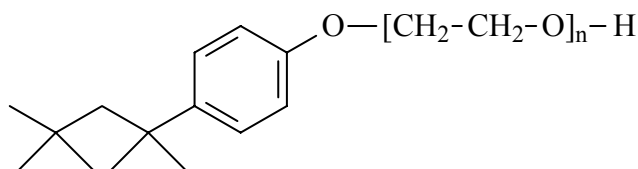
*Kationische Tenside* besitzen in Lösung nach Dissoziation als polare Gruppe ein Kation, dabei sind vor allem quartäre Ammoniumverbindungen wie z. B. das in dieser Arbeit (siehe Kapitel 2.2.9) verwendete CTAB (*hexadecyl trimethyl ammonium bromide*) zu nennen (siehe Abb. 1.8.4.1 links). Der CMC-Wert bei CTAB beträgt 0.8-1.0 mM<sup>[260]</sup>.

*Anionische Tenside* besitzen als polare Gruppe meist Sulfat, Sulfonat oder Carboxylat, dazu gehört das für Versuche benutzte SDS (*sodium dodecyl sulfate*) (siehe Abb. 1.8.4.1 rechts). Sein CMC-Wert beträgt 7.08-8.27 mM<sup>[260]</sup>.



**Abbildung 1.8.4.1** Strukturformeln des kationischen Tensids CTAB (links) und des anionischen Tensids SDS (rechts).

Die *nichtionischen Tenside* bilden in Wasser keine Ionen. Ihre hydrophile Gruppe ist meist eine Polyether-Kette, so auch beim in dieser Arbeit verwendeten Triton<sup>®</sup> X-100 (*octylphenoxy polyethoxyethanol*; n=9 bis 10) (siehe Abb. 1.8.4.2). Sein CMC-Wert beträgt 0.23-0.30 mM<sup>[260]</sup>.



**Abbildung 1.8.4.2** Strukturformel des nichtionischen Tensids Triton<sup>®</sup>.

Mitglieder der Gruppe der *Amphotenside* besitzen mehrere funktionelle Gruppen, sodass sie je nach Medium zu Anionen oder Kationen dissoziieren. Am isoelektrischen Punkt sind sie in der Lage, innere Salze zu bilden, wodurch sie in Wasser schwer löslich werden und ausfallen. Aus technischen und Biomineralisationsprozessen ist bekannt, dass die Gegenwart von Tensiden die Morphologie und das Wachstum von Kristallen beeinflusst<sup>[1, 261]</sup>. Der meist inhibierende Effekt der oberflächenaktiven Additive kann durch Adsorption auf der Kristalloberfläche erklärt werden.

## 2. Experimentelle Durchführung und Ergebnisse

### 2.1 HAP-Beschichtung aus der Lösung

Um eine bessere Biokompatibilität von metallischen Knochenimplantaten zu erzielen, werden diese mit Calciumphosphat beschichtet.

Es existieren mehrere Methoden, um eine solche Beschichtung zu erreichen, z. B. Hochtemperatur-Plasma-Spritzen, *Ion Sputter Deposition* und Electrochemical Deposition.

Im AK Epple wird ein weiteres Beschichtungsverfahren angewandt, die Ausfällung aus übersättigter Calciumphosphatlösung auf funktionalisierten Oberflächen. Dies hat mehrere Vorteile: Bei Raumtemperatur entstehen abhängig von der Lösungskonzentration nur die Phasen, die im Körper die gewünschte Auflösungsgeschwindigkeit besitzen. Es können auch thermisch empfindliche Materialien wie Polymere beschichtet werden und es können thermisch labile Beimengungen, z. B. Antibiotika, in die Beschichtung eingebaut werden. Dazu können auch Proben mit komplizierterer Geometrie sowie poröse Proben beschichtet werden.

Zur Beschichtung von metallischen Werkstoffen ist allerdings eine Aktivierung der Oberfläche nötig, damit die Metalloberfläche eine höhere Affinität gegenüber den Ionen hat. So kristallisieren Calcium- und Phosphationen dort und nicht an den Gefäßwänden oder einfach in der Lösung aus. Das relativ unedle Titan bildet ebenso wie NiTi von Natur aus eine passivierende Oxidschicht auf seiner Oberfläche, die durch Behandlung mit KOH und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aktiviert werden kann, sodass eine raue Titanoxid / Titanhydroxid / Titanat Schicht entsteht. Entgegen vorheriger Überlegungen wurde experimentell festgestellt, dass diese Schicht auch nach einem Trocknungsprozess immer noch in der Lage ist, eine Calciumphosphatschicht zu binden. Es macht keinen Unterschied, ob die Proben sofort nach dem Abspülen in die Tauchlösung getaucht werden, oder ob die Proben noch einige Stunden aufbewahrt und dabei getrocknet werden.

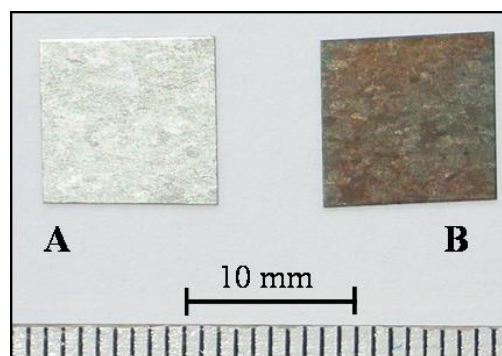
Beim Eintauchen in eine Calciumphosphatlösung verdrängen die Calciumionen andere Kationen wie K<sup>+</sup> aus der Titanatschicht, worauf sich dann die Phosphat-Anionen an die Calcium-Kationen anlagern und die Beschichtung bilden. Die Titanatschicht beschleunigt also lokal die Kristallisation im Vergleich zum natürlichen langsameren Auskristallisieren aus der übersättigten Lösung. Solche Tauchversuche können auch in so genanntem SBF (*simulated*

*body fluid*) durchgeführt werden, das alle anorganischen Ionen des menschlichen Blutplasmas enthält, z. B.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  und andere (siehe Tabelle 1.6.7.1).

Die hier beschriebenen Arbeiten hatten nur einfache Calciumphosphatbeschichtungen zum Ziel, daher waren Lösungen mit Calcium und Phosphat ausreichend. Die entstehende Beschichtung ist chemisch an die Metalloberfläche gebunden, was sich günstig auf eine feste Verankerung des Implantats im Knochenraum auswirkt, da metallische Implantate alleine keine feste Bindung zum Knochen ausbilden. Die Calciumphosphatschicht wirkt aufgrund ihrer Ähnlichkeit zum menschlichen Knochen als Bindemittel, da die knochenbildenden Zellen (Osteoblasten) auf ihr neuen Knochen erzeugen, wodurch eine mechanisch belastbare Verbindung zum vorhandenen Knochen entsteht.

Zur verbesserten Biokompatibilität kommt, dass durch die Körperflüssigkeit das Calciumphosphat langsam aufgelöst und zum Neuaufbau von Knochen verwendet wird. Wichtig ist dabei allerdings, dass die Knochenwachstumsgeschwindigkeit und die Abbaugeschwindigkeit des künstlichen Calciumphosphats möglichst gleich sind. Löst sich die Beschichtung zu schnell auf, so entsteht ein Loch zwischen Implantat und Knochen, und das so schneller wachsende Bindegewebe wächst in den Defekt ein, wodurch die mechanische Stabilität herabgesetzt wird.

Zur Untersuchung der Beschichtungsmethoden wurden hier zumeist nur kleine, aus einer Folie ausgeschnittene Plättchen (meist  $10 \times 10 \times 0.25 \text{ mm}^3$ ) eingesetzt, da vor allem die in Kontakt zu Gewebe stehenden Oberflächen der zu beschichtenden Materialien interessant sind.



**Abbildung 2.1.1** Beispiel der verwendeten NiTi-Plättchen (a: nicht geätzt; b: geätzt)

Als Probenträger wurden Titan und seine Legierungen Ti6Al4V (Firma Goodfellow, Deutschland) und NiTi (Firma Memory-Metalle, Deutschland) verwendet. Ti6Al4V verhielt sich wie Titan, deshalb wird im Folgenden nur auf Titan und NiTi als Formgedächtnislegierung eingegangen.



### 2.1.1 Vorbereitung und chemische Bearbeitung der Proben

Titan wurde ebenso wie NiTi zuerst mit Aceton 5 min im Ultraschallbad und danach manuell gereinigt, später wurde dieser Vorgang mit Ethanol wiederholt. Nach Abspülen mit destilliertem Wasser wurden die Proben getrocknet und gewogen, um so ihre Masse ohne Verunreinigungen festzustellen.

Die Titanproben wurden dann im Reagenzglas einem 5:1-Gemisch (Volumina) aus KOH 5 M und 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  für 20 min bei ca. 115 °C im Trockenschrank ausgesetzt. Dabei ist wichtig, dass der Reagenzglasständer im Abstand von einigen Minuten geschüttelt wurde, da sonst einzelne Stellen der Oberfläche durch entstehende Titandioxidflocken passiviert wurden. Nach der Bearbeitung wurden die Proben entnommen und ausgiebig abgespült, um die  $\text{OH}^-$ -Ionen zu entfernen, die den lokalen pH-Wert in der später verwendeten Tauchlösungen zu stark verändert hätten. Anschließend wurde getrocknet und gewogen, um den Masseverlust festzustellen. Dieser lag zwischen 3.9 und 5.7 Gew.-% und durchschnittlich bei 4.7 Gew.-%.

Bei Titan ist es wenig wichtig, wie lange die Plättchen geätzt werden. Es wurden bei 20, 30 oder 40 min keine signifikanten Unterschiede in der Oberflächenbeschaffenheit festgestellt, auch die später erhaltenen Beschichtungen ließen keine großen Unterschiede erkennen. Wird nur 10 min geätzt, so wird die Calciumphosphat-Beschichtung dünn, da nicht genug HAP auf der Oberfläche haften bleibt, dasselbe gilt für NiTi. Die Behandlungszeit sollte sowohl bei Titan als auch bei NiTi mindestens 20 min betragen. Auch augenscheinlich lässt sich die Vollständigkeit der Aktivierung bewerten: Die Titanoberfläche sollte nach ausreichender Bearbeitung dunkelgrau und rau aussehen, bei nur 10 min Behandlung ist sie heller und glatter. Die ausreichend bearbeitete NiTi-Oberfläche schillert im feuchten Zustand mehrfarbig, im trockenen Zustand wirkt sie grünlich.

Die Bearbeitung von NiTi ist unterschiedlich. Um eine gute Calciumphosphat-Beschichtung zu erhalten, muss zuerst 20 min mit 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei ca. 140 °C auf der Heizplatte oxidiert und danach 20 min mit 5 M KOH bei ca. 115 °C im Trockenschrank bearbeitet werden. Es hat sich als nachteilig erwiesen, die Plättchen wie bei der Behandlung mit KOH einfach in einem Reagenzglas in den Trockenschrank zu stellen. Man erhält gleichmäßigere Beschichtungen, wenn die Plättchen in einem Becherglas mit siedendem 30 %igem Wasserstoffperoxid behandelt werden. Es muss dabei erstens darauf geachtet werden, dass die Plättchen sich bewegen und nicht die ganze Zeit auf einer Stelle und einer Seite liegen. Zweitens ist darauf zu achten, dass die Plättchen nicht aneinander haften, deshalb ist es auch ratsam, nicht zu viele in ein Becherglas zu geben, da sich sonst kaum vermeiden lässt, dass die Plättchen

aufeinander liegen. Die Nichtbeachtung dieser Hinweise führt zu einer ungleichmäßigen Oxid-Schicht und auch die nachfolgende Behandlung mit KOH kann nicht verhindern, dass die nachher entstehenden Calciumphosphatbeschichtungen teilweise sehr fehlerhaft sind (nicht komplett, nur einseitig, löchrig...).

Für NiTi wurde bei unterschiedlich langer Behandlung oberhalb von 20 min sowohl mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  als auch mit KOH kein Unterschied festgestellt. Die NiTi-Proben mussten ebenso wie die Titanproben nach der chemischen Bearbeitung ausgiebig gespült werden. Durch Trocknung und Auswiegen der auch vor dem Prozess gewogenen Proben (ca. 170 mg) konnte ein sehr geringer Masseverlust festgestellt werden, der sich im Bereich von 0.3 mg bzw. bei 0.2 % bewegte.

### 2.1.2 Durchführung der Beschichtung (Tauchprozess)

Zur Beschichtung einer wie oben aktivierten Probe wird diese in eine übersättigte Calciumphosphatlösung getaucht. Die am besten funktionierende Ionenkonzentration für Calcium und Phosphat (3 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , 2 mM  $\text{PO}_4^{3-}$  bei pH 7) wurde experimentell bestimmt, obwohl das stöchiometrische Verhältnis von Calcium zu Phosphat in HAP  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  ein anderes ist (Ca:P=1.67).

Die 0.1-molaren Ausgangslösungen wurden mit Calciumacetat und Kaliumdihydrogenphosphat angesetzt, zur Einstellung des pH-Wertes wurde 0.1-molare KOH verwendet.

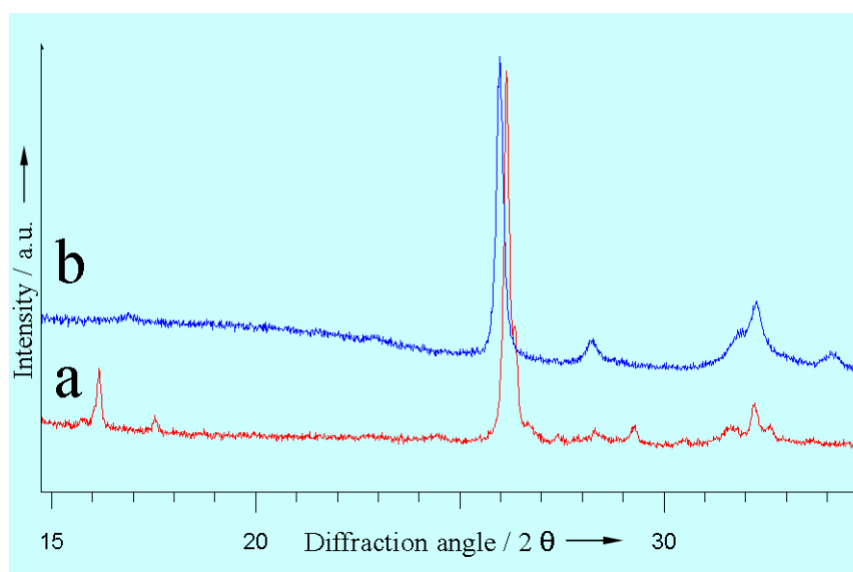
Die Tauchlösung wurde wie folgt zubereitet: Es wurden ca. 90 mL reines Wasser in einem 100 mL Plastikgefäß vorgelegt, in die 2 mL der 0.1 M Phosphatlösung gegeben wurden. Es wurde ein pH-Wert von ca. 7.25 eingestellt, dann wurden portionsweise und unter Rühren 3 mL Calciumlösung hinzugegeben und mit reinem Wasser auf 100 mL aufgefüllt, wodurch ein pH-Wert von 7 erreicht wird. Bei der Zugabe von Calciumlösung ist darauf zu achten, dass nicht zu viel auf einmal hinzugegeben wird. Beim hauptsächlich verwendeten 3:2-Ansatz mit pH 7 wurde nach jedem zugegebenen mL  $\text{Ca}^{2+}$ -Lösung das Gefäß verschlossen und gründlich geschüttelt. Ebenfalls wichtig ist, dass nach der Calciumzugabe kein KOH mehr zugegeben werden darf, da sich ansonsten trotz Rühren lokal ein zu hoher pH-Wert einstellt, Kristallkeime entstehen und die Lösung trüb wird. Deshalb muss vorher der pH so eingestellt werden, dass nach der  $\text{Ca}^{2+}$ -Zugabe ein pH-Wert möglichst nahe an 7 realisiert wird.

Da man sich bei den verwendeten Konzentrationen und damit zusammenhängenden pH-Werten sehr nahe an der Kristallisationsgrenze bewegt, ist es nötig, möglichst sauber (ohne Verunreinigungen) zu arbeiten. Kristallkeime in der Tauchlösung können zu ungewollter

Kristallisation führen. Manchmal ist die ungewollte Kristallisation etwas verzögert (ca. 15 min) und man bemerkt die entstehende Trübung erst dann, wenn die Proben bereits in der Lösung stehen. Damit liefert dieser Ansatz mit hoher Wahrscheinlichkeit keine gute bzw. gar keine Beschichtung und ist nutzlos. Es bietet sich an die Tauchlösungen vor dem Eintauchen der Proben erst eine halbe Stunde stehen zu lassen, um zu warten, ob eine Trübung sichtbar wird. Die Trübung (Kristallisation in der ganzen Lösung) ist immer mit einem Abfall des pH-Werts verbunden, was nach 24 h dazu führen kann, dass keine gute Beschichtung der Probe erreicht wird, wenn der pH-Wert um mehr als 0.4 fällt. Tritt dieser Fall ein, so kann man die Lösung sofort verwerfen. Der normale pH-Abfall nach 24 h liegt bei 0.1 – 0.3, je mehr je größer die zu beschichtende Oberfläche ist.

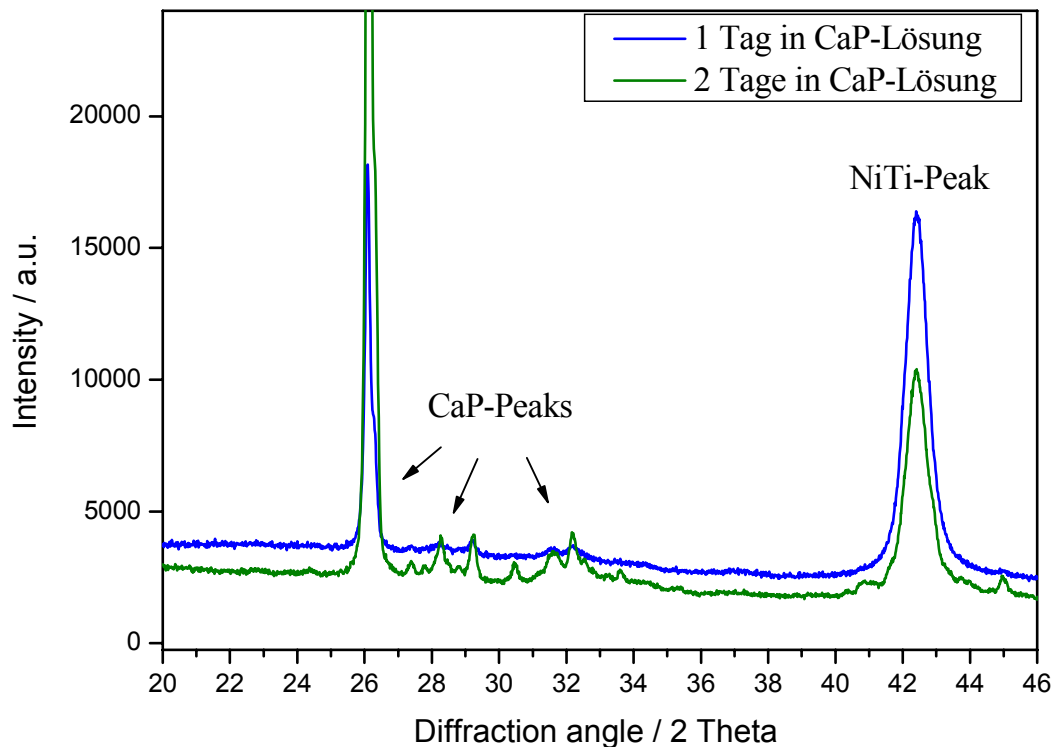
In die so vorbereitete Tauchlösung wurden die Proben stehend (siehe Abb. 2.1.3.1) in einem Probenhalter aus einem zerschnittenen Plastikschauch gestellt und nach 24 h entnommen. Das 100 mL-Gefäß wurde dabei verschlossen, um CO<sub>2</sub> aus der Luft auszuschließen.

Die aus dem Tauchprozess entstandene Beschichtung bestand hauptsächlich aus Octacalciumphosphat,  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , einem Vorläufer von Hydroxylapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Um OCP komplett in HAP umzuwandeln, musste die beschichtete Probe bei pH 5-6 und 60 °C in eine 0.5 M Calciumnitratlösung getaucht werden. Nach 24 h bestand die Schicht hauptsächlich aus HAP. Dieser Schritt wurde allerdings nicht standardmäßig ausgeführt, sondern nur um zu beweisen, dass der Übergang von OCP zu HAP auf diese Weise möglich ist (siehe Abb. 2.1.2.1).



**Abbildung 2.1.2.1** XRD-Analysen; nach 24 h in der Tauchlösung entsteht OCP (a), nach weiterem Eintauchen in  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lsg. entsteht HAP (b)

Für die Herstellung der CaP-Beschichtung wurde normalerweise 24 h eingetaucht. Ein längerer Aufenthalt der metallischen Proben in der Tauch-Lösung (z.B. 48 h) führte zur Umwandlung des wenig kristallinen CaP (z. B. ACP) in kristallinere CaP-Phasen (HAP). Diese Erhöhung der Kristallinität ist mittels XRD deutlich zu sehen (siehe Abb. 2.1.2.2). Außerdem ist zu erkennen, dass die Beschichtung dicker wird, was die Intensitätsverkleinerung des Substrat-Peaks (in diesem Fall NiTi) zeigt.

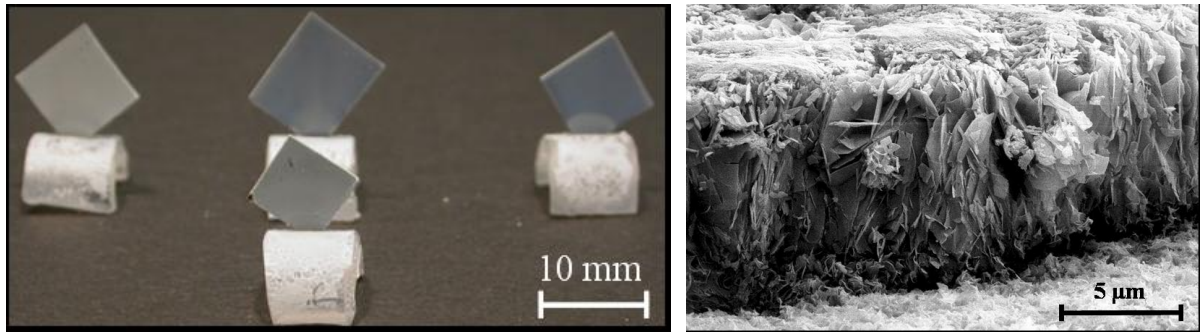


**Abbildung 2.1.2.2** XRD-Analysen; Erhöhung der Kristallinität der CaP-Phase (OCP/HAP) durch längere Behandlung in CaP-Lösung

Die Calciumphosphatphase OCP ist allerdings für medizinische Belange ausreichend, sodass beschriebene Tauchversuche eigentlich vor allem eine OCP-Schicht mit Anteilen von HAP erzeugten. Der Einfachheit halber wird im Folgenden nur von HAP gesprochen.

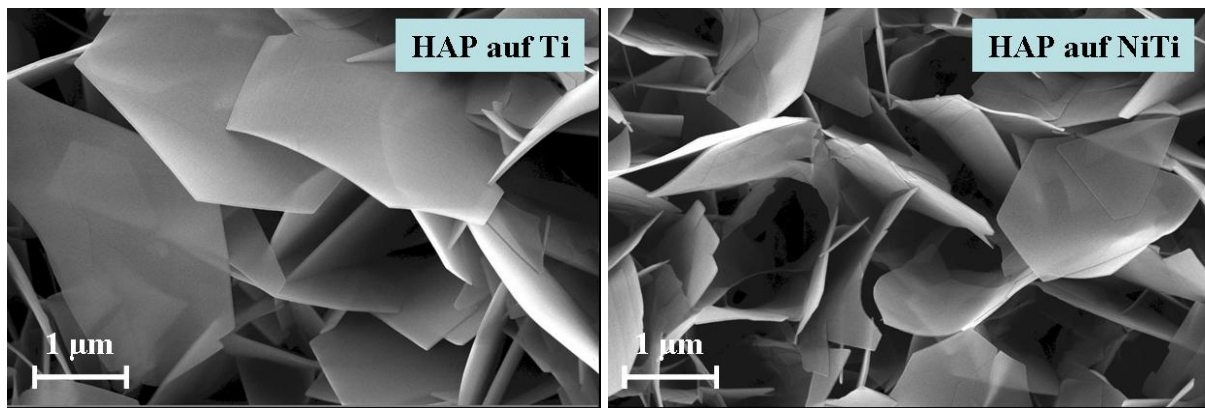
### 2.1.3 Analysen und Stabilitätstests der Beschichtung

Die wie oben beschrieben hergestellten Beschichtungen sind weiß und bedecken die Metalloberfläche vollständig, außer der Ecke, mit der die Probe im Probenhalter steckte. REM-Untersuchungen zeigten, dass die Schicht ca. 10-15 µm dick und von plättchenförmiger Struktur ist, typisch für OCP und HAP Kristalle (siehe Abb. 2.1.3.1).

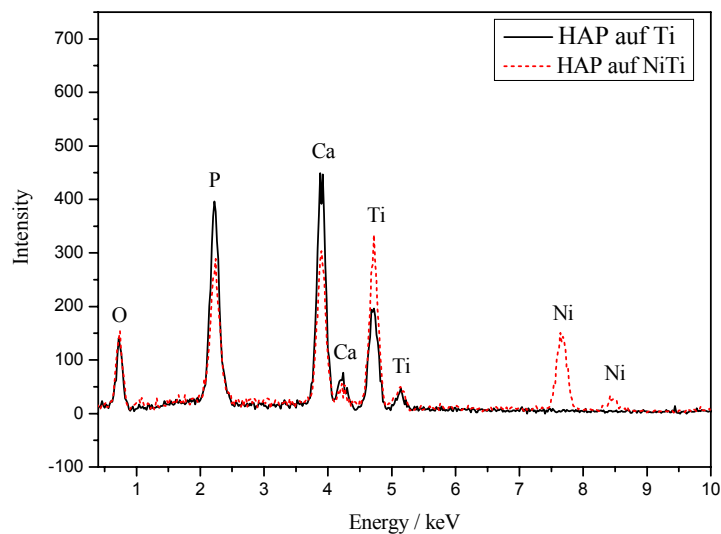


**Abbildung 2.1.3.1** Beschichtete metallische Proben; gebildete Schicht aus Calciumphosphat

Außerdem ist auf REM-Aufnahmen (Abb. 2.1.3.2) zu sehen, dass es keine signifikanten Unterschiede der Beschichtungen auf Ti oder NiTi gibt. In beiden Fällen entstehen plättchenförmige Kristalle, die die metallische Oberfläche komplett bedecken. XRD-Analysen zeigten, dass es sich bei der Beschichtung um Calciumphosphat (OCP und HAP) handelt.



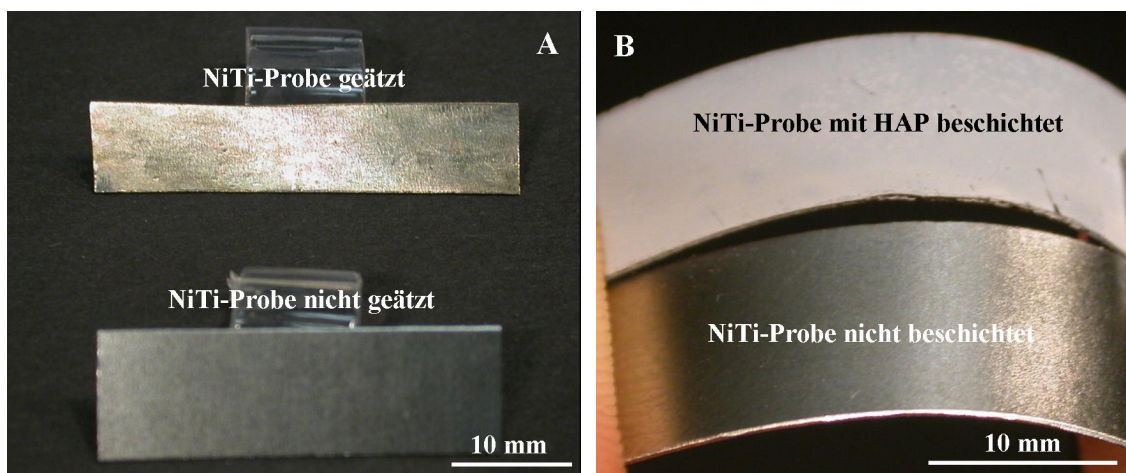
**Abbildung 2.1.3.2** REM-Aufnahme: HAP-Beschichtung auf Ti und NiTi



**Abbildung 2.1.3.3** EDX-Analyse: Ti und NiTi-Proben mit HAP beschichtet; charakteristische Peaks für Beschichtung und Substrat an den erwarteten Positionen

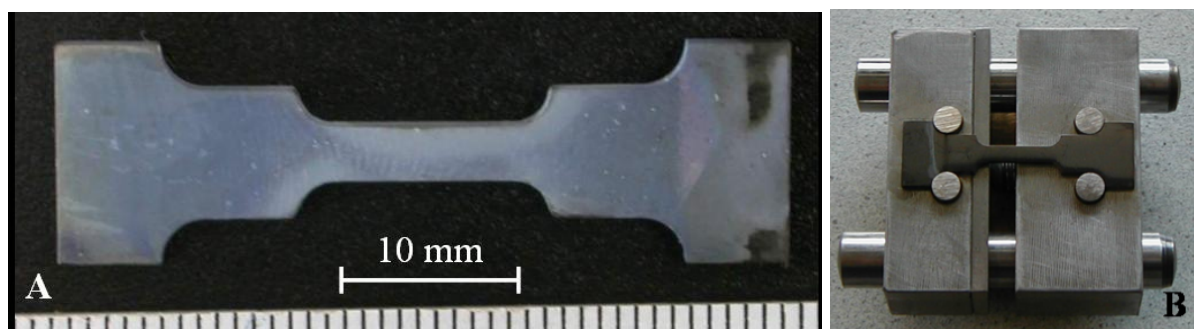
Die EDX-Analysen (siehe Abb. 2.1.3.3) beider Beschichtungen zeigte Calcium, Phosphor und Sauerstoff aus der Beschichtung und Ti bzw. Ni des metallischen Substrats.

Da mit dem Auge nicht zu sehen ist, ob die Beschichtung auch fest an die Oberfläche gebunden ist, wurden verschiedene Versuche durchgeführt. Es wurden längliche NiTi-Proben hergestellt (siehe Abb. 2.1.3.4 A) statt der üblichen 8×8 mm Proben, die sich nur schwer biegen ließen. Diese einige cm-langen Proben ließen sich besser biegen, wobei festgestellt wurde, dass die Schicht nicht abplatzte. Aufgrund ihrer Superelastizität kehrten die Proben nach der Biegung in ihre ursprüngliche Form zurück, ohne dass eine Veränderung in der Beschichtung augenscheinlich sichtbar war (Abb. 2.1.3.4 B).



**Abbildung 2.1.3.4** Geätzte und nicht geätzte NiTi-Proben (A) und Biegung unbeschichteter und beschichteter Probe (B)

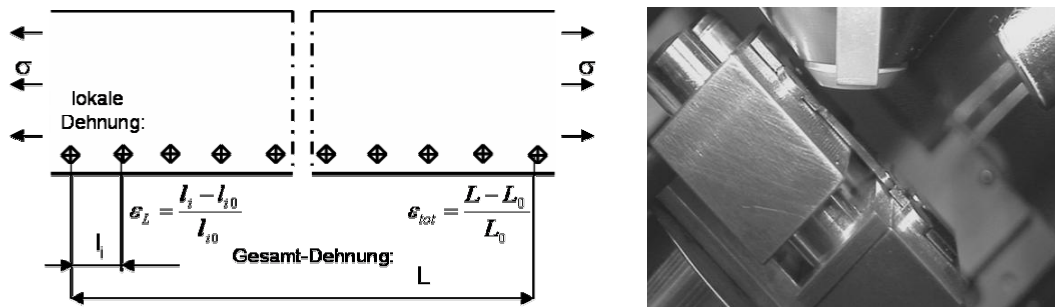
Für weitere Stabilitätstests wurden NiTi-Proben von einigen Millimetern Dicke mit einer speziellen Geometrie hergestellt (Forschungszentrum Jülich, Prof. Dr. D. Stöver), die es ermöglichte Zugbelastungen auf die Probe auszuüben (Ruhr-Universität Bochum, Prof. Dr. Pohl). Die Proben wurden nach dem Standardverfahren mit HAP beschichtet (Abb. 2.1.3.5).



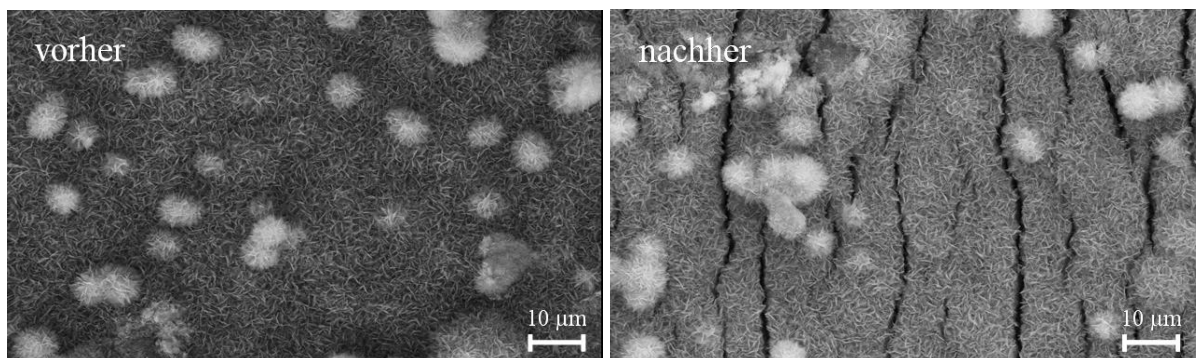
**Abbildung 2.1.3.5** Mit HAP beschichtete NiTi-Zugprobe (A); Position in der Zug-Anlage (B)



In die Probe wurden Punkte in gleichen Abständen eingekerbt, sodass nach der Dehnung die veränderten Abstände zwischen den Punkten gemessen werden konnten (Abb. 2.1.3.6 links). Daraus konnten die lokale und die gesamte Dehnung berechnet werden. Die Probe wurde von beiden Seiten gleichmäßig gezogen, dann wurde sie noch in der Einspannvorrichtung ins REM gelegt, um eine Kontraktion auszuschließen, die die exakte Dehnung verfälscht hätte.



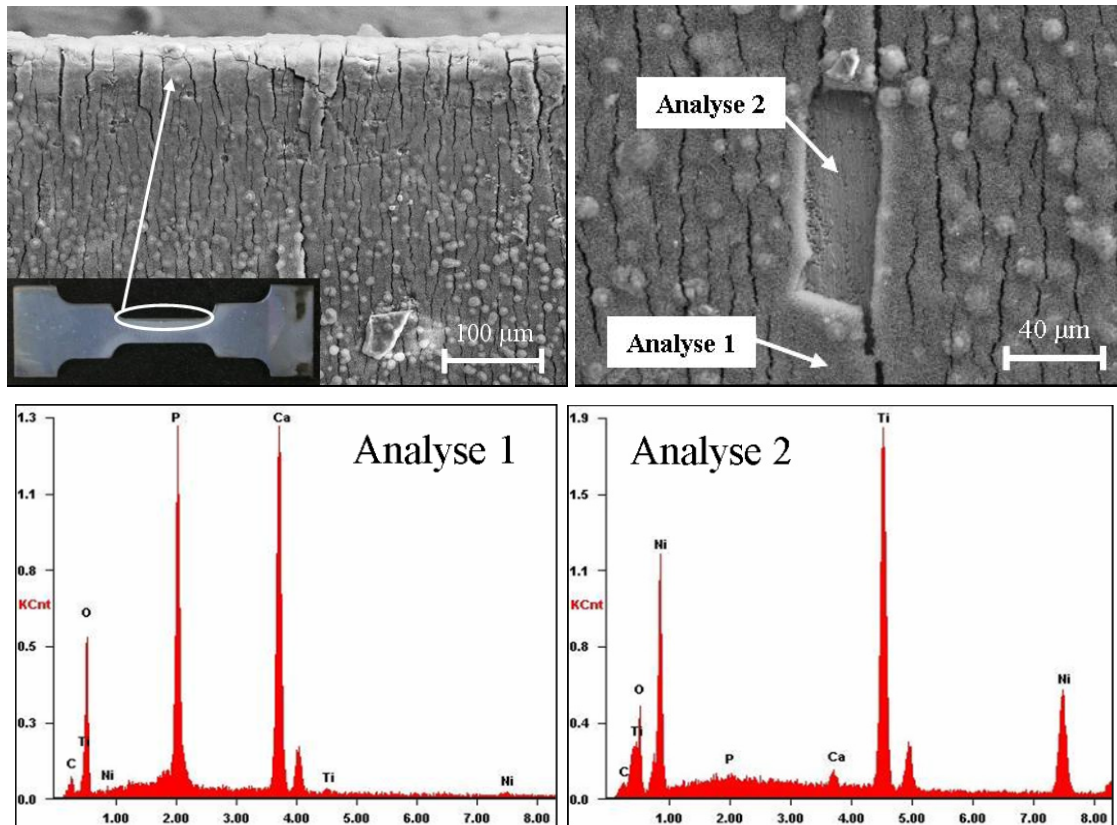
**Abbildung 2.1.3.6** links: Schematische Darstellung der NiTi-Zugprobe mit Punkten zur Längenmessung; rechts: Zuganlage im REM eingebaut zur fortlaufenden Untersuchung



**Abbildung 2.1.3.7** REM-Aufnahmen der HAP-Beschichtung vor und nach Zugversuch

Bei den Zugversuchen wurde eine Dehnung der Probe von ca. 10 % erreicht. Auch hier änderte sich die Beschichtung augenscheinlich nicht, allerdings waren in REM-Aufnahmen Risse von 1 µm Breite zu sehen, die senkrecht zur Zugrichtung verliefen (siehe Abb. 2.1.3.7), was zu erwarten war. Trotz der großen mechanischen Belastung blieb jedoch der Großteil der Beschichtung auf der Metalloberfläche haften, was für eine stabile chemische Bindung zwischen Calciumphosphat und Metall spricht.

Es waren auch einige Stellen zu sehen, bei denen ein Teil der Beschichtung abgeplatzt war (siehe Abb. 2.1.3.8 oben rechts). Die EDX-Analyse (Abb. 2.1.3.8 unten) wies allerdings auch dort noch Calciumphosphat nach. Dies deutet auf die Existenz einer dünnen (ca. 1 µm dicken) Calciumphosphat-Schicht hin.



**Abbildung 2.1.3.8** REM-Aufnahmen (oben): Risse in CaP-Schicht nach Dehnung um 10 %; EDX-Analysen (unten): Ca, P und O-Peaks mit verschiedenen Intensitäten aufgrund von geringerer Schichtdicke (rechts)

## 2.1.4 Biologische Untersuchungen

Um einen Stoff zur Implantation einsetzen zu dürfen, muss er zunächst chemisch, mechanisch und biologisch untersucht werden. Wenn die chemischen und mechanischen Anforderungen erfüllt sind, dann können die biologischen Untersuchungen folgen. Die erste Phase dieser Untersuchungen besteht aus Zellkulturexperimenten. Mit diesen Experimenten lässt sich zeigen, dass die hergestellten Proben biokompatibel und nicht cytotoxisch sind, also dass auf sie aufgebrachte Zellen nicht absterben.

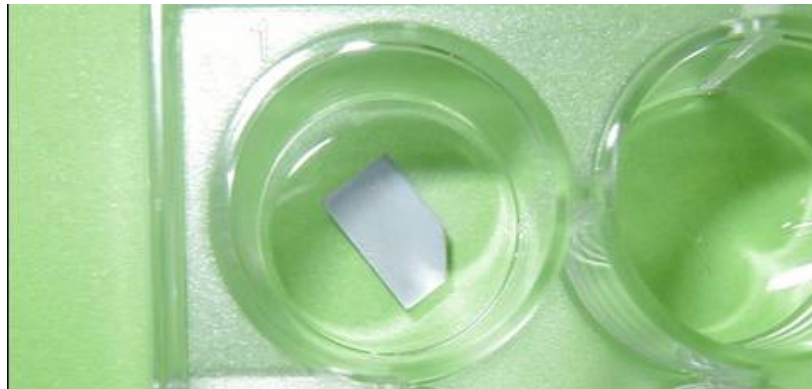
Alle im Folgenden beschriebenen biologischen Untersuchungen wurden in der Abteilung für Experimentelle Unfallchirurgie im Krankenhaus Bochum-Bergmannsheil von Köller et al. durchgeführt.

Die verwendeten Zellen waren Blutzellen vom PMN-Typ (*polymorphonuclear neutrophils* - isolierte polymorphkernige neutrophile Granulozyten [Leukozyten]) und vom PBMC-Typ (*peripheral blood mononuclear cells* - mononukleäre Zellen des peripheren Blutes), die im



Körper für die Abwehr von Krankheitserregern zuständig sind. Sie wurden aus der Zentrifugation menschlichen Blutes gewonnen.

Da Titan bekanntermaßen biokompatibel ist, wurde nur NiTi in Zellkultivierungstests (siehe Abb. 2.1.4.1) auf eine Verbesserung der Biokompatibilität durch Beschichtung hin untersucht, da es aufgrund seines hohen Nickelgehalts eine cytotoxische Wirkung zeigen könnte.



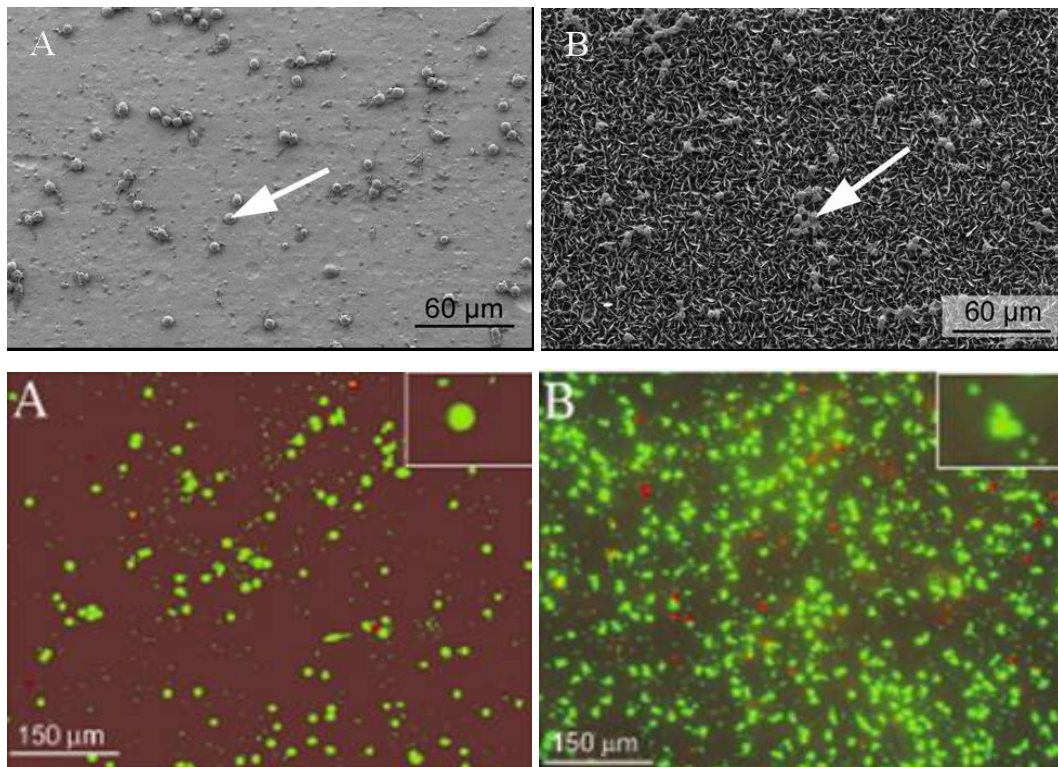
**Abbildung 2.1.4.1** Zellkulturexperimente mit Blutzellen: mit HAP beschichtetes NiTi im Zellmedium.

Das Verhalten der beschichteten und unbeschichteten NiTi-Proben wurde durch Kokultivierung (24 h, Zellbedingungen: 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> in feuchter Atmosphäre) humaner Leukozyten-Fractionen (**PBMC** sowie **PMN**) untersucht. Es wurden die Proliferation mittels REM und die Cytotoxizität (fluoreszenzmikroskopisch) von Leukozyten auf den Probekörpern (im Vergleich mit Zellen ohne NiTi) bestimmt.

REM-Untersuchungen ergaben, dass die PMN-Zellen auf den mit Calciumphosphat beschichteten Proben eine bessere Adhärenz zeigten als auf unbeschichteten Proben, also dass die Beschichtung die Biokompatibilität der Metalloberfläche verbesserte. Dazu kommt die unterschiedliche Zellmorphologie: PMN-Zellen auf den Beschichtungen (siehe Abb. 2.1.4.2 B) breiteten sich aus, was typisch für aktivierte und nichtapoptotische PMN-Zellen ist, während die Zellen auf dem Metall (Abb. 2.1.4.2 A) eine typische Rundstruktur für apoptotische PMN-Zellen zeigten.

Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen (Abb. 2.1.4.2 unten) ergaben, dass reines NiTi nicht cytotoxisch ist, da nur sehr wenige Zellen auf seiner Oberfläche starben, während viele andere überlebten. Die Untersuchungen zeigten eine noch höhere Rate an lebenden PMN-Zellen auf den Calciumphosphatbeschichtungen (nur 0.5 % aller Zellen starben) als auf den reinen NiTi-Oberflächen, was eine Verbesserung der Biokompatibilität durch die

Beschichtung beweist. Die mit Calcein angefärbten lebenden Zellen fluoreszieren grün, während die mit Propidiumiodid angefärbten abgestorbenen Zellen rot fluoreszieren.



**Abbildung 2.1.4.2** REM-Aufnahmen (oben): Zelladhärenz auf NiTi (A), HAP auf NiTi (B); Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen (unten): an der NiTi-Oberfläche adhärenzte (A) und an der HAP-Schicht adhärenzte (B) PMN-Zellen (rot: tote Zellen; grün: lebendige Zellen)

Die Cytokinkonzentrationen (gewonnen nach Zelladhärenz von Leukozytenfraktionen [PBMC und PMN] an beschichtetem und unbeschichtetem NiTi und die Kontrollprobe ohne NiTi) wurden über ELISA (*enzyme linked immunosorbant assay*) quantifiziert. Die Steigerung der Cytokinkonzentration (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , GM-CSF) von unbeschichteten zu beschichteten Proben zeigt, dass dort mehr Zellen aktiviert werden. In Verbindung mit den zuvor beschriebenen fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen, die zeigten, dass die Zellen überleben, lässt sich sagen, dass diese Aktivierung positiver Natur ist und die Zellen nicht Cytokin freisetzen, weil sie am Absterben sind, sondern lediglich, da sie in Kontakt mit einem Fremdkörper sind.

### 2.1.5 Nickelfreisetzung aus beschichteten und unbeschichteten NiTi-Plättchen

Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen zeigten, dass NiTi nicht cytotoxisch wirkte und dass seine Biokompatibilität durch eine HAP-Beschichtung noch verbessert wurde. Mit den im Folgenden beschriebenen Freisetzungsuntersuchungen sollte die Menge des Nickels quantifiziert werden, der sich von der Oberfläche ablöst und negative Folgen für den Körper bzw. die Anhaftung des Implantats haben kann. Dazu ist zu bemerken, dass die chemische Bearbeitung zur Aktivierung der Oberfläche die Nickelfreisetzung wegen der Beschädigung der schützenden  $\text{TiO}_2$ -Schicht erhöht. Dieser Effekt wird allerdings durch die chemische Bindung zwischen der aufgetragenen Calciumphosphat-Schicht und der so aktivierten Metalloberfläche kompensiert.

Zuerst wurden reines NiTi, chemisch bearbeitetes NiTi und mit HAP beschichtetes NiTi untersucht. Zwei NiTi-Plättchen ( $10 \times 10$  mm) wurden nach dem Standardverfahren (siehe Kapitel 2.1.1) in 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  und 5 M KOH je 20 min chemisch bearbeitet, während eines nur gereinigt wurde (Ultraschallbad: Aceton, Ethanol, Wasser). Eines der geätzten Plättchen wurde dann nach dem Standardverfahren mit HAP beschichtet.

Die Freisetzung der drei so vorbereiteten Proben wurde im 1 mL Maßstab bei 37 °C in 0.1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  / 0.1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  nickelfreiem Puffer bei ca. pH 7.4 (mit NaOH eingestellt) durchgeführt. In Vorversuchen wurde deutlich, dass der Nickelblindwert der verwendeten Pufferlösungen so hoch war (ca. 25 ppb), dass den Werten nur bedingt vertraut werden konnte, deshalb wurden suprapure Chemikalien verwendet.

Zur Freisetzung wurde nur jeweils der eine mL Puffer abgenommen und durch einen neuen mL ersetzt. Dabei wurden alle verwendeten chemischen Geräte auch von außen nur mit Handschuhen berührt, außerdem wurden für jede Probenentnahme und Puffernachfüllung neue Pipettenspitzen verwendet, die dazu noch dreimal ausgespült wurden. Die Freisetzung wurde eine Woche lang jeden Tag, danach nur noch in mehrtägigem Abstand durchgeführt.

Die mittels AAS erhaltenen Ergebnisse (siehe Tabelle 2.1.5.1) zeigen, dass reines unbehandeltes NiTi nur sehr wenig Nickel freisetzt: die Werte liegen im einstelligen ppb-Bereich. Das chemisch bearbeitete NiTi setzte um Größenordnungen mehr Nickel frei, die Werte sind ca. 1000-mal größer. Diese kleinen Werte für reines NiTi und große Werte für geätztes NiTi wurden in einem neuen Versuch noch einmal geprüft. Die zusätzliche Messung zeigte identische Größenordnungen. Beide Messungen zeigten einen ähnlichen Verlauf der Ni-Freisetzung.

Tag	Dauer [d]	reines NiTi				geätztes NiTi			
		erste Messung [ppb]		wiederholte Messung [ppb]		erste Messung [ppb]		wiederholte Messung [ppb]	
		insgesamt	tägliche	insgesamt	tägliche	insgesamt	tägliche	insgesamt	tägliche
1	1	5.8	5.8	72.1	72.1	10100.0	10100.0	8310.0	8310.0
2	1	0.0	0.0	22.1	22.9	1460.0	1460.0	4790.0	4790.0
3	1	0.0	0.0	15.3	15.3	3160.0	3160.0	3440.0	3440.0
4	1	0.0	0.0	6.0	6.0	1962.2	1962.2	2170.0	2170.0
5	1	0.0	0.0	6.0	6.0	1687.8	1687.8	1910.0	1910.0
6	1	0.0	0.0	5.4	5.4	1417.8	1417.8	1570.0	1570.0
7	1	0.0	0.0	6.6	6.6	1078.7	1078.7	1490.0	1490.0
10	3	4.6	1.5	11.0	3.7	2055.2	685.1	2350.0	783.3
13	3	4.0	1.3	3.8	1.26	1686.4	562.1	1954.0	651.3
16	3	3.3	1.1	10.1	3.4	1558.9	519.6	2653.0	884.3
19	3	5.2	1.7	---	---	1350.0	450.0	---	---
22	3	7.0	2.3			1268.0	422.7		
25	3	5.6	1.9			1162.0	387.3		
32	7	18.3	2.6			2100.0	300.0		
39	7	6.7	1.0			1457.0	208.1		

**Tabelle 2.1.5.1** Ni-Freisetzung aus reinem und chemisch bearbeitetem NiTi (10×10 mm).

Das chemisch bearbeitete und danach mit HAP beschichtete NiTi setzte keine messbaren Mengen Nickel frei, so dass man sagen kann, dass die Beschichtung die Freisetzung von Nickel verhindert, was auch mit den Ergebnissen der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen im Einklang steht. Diese Untersuchung zeigt deutlich, dass NiTi vom Standpunkt der Nickelfreisetzung sowohl rein als auch bearbeitet und danach beschichtet für medizinische Anwendungen im Körper zur Verfügung steht. Reines NiTi passiviert ähnlich wie reines Titan.

Es muss aber gesagt werden, dass die HAP-Beschichtung nur dann die Ni-Freisetzung verhindert, wenn sie die NiTi-Oberfläche vollständig bedeckt und dick genug ist. Bei weiteren Messungen setzten augenscheinlich gut beschichtete NiTi-Proben 7-10 ppb pro Tag frei. Schlecht beschichtete NiTi-Proben mit sichtbar dünner und unvollständiger HAP-Beschichtung zeigten bis 1000 ppb pro Tag.

Für den Einsatz des NiTi als Knochenersatzmittel ist die Calciumphosphatbeschichtung jedoch notwendig, um wie zuvor beschrieben eine gute Anhaftung des Implantats an den Knochen zu bewirken. Im Körper wird die HAP-Schicht jedoch langsam abgebaut, sodass die darunter liegende chemisch bearbeitete Metalloberfläche zum Vorschein kommt, was wie oben gezeigt zu einer hohen Nickelkonzentration im Körper führen kann. Durch den Einsatz von HCl in verschiedenen Konzentrationen auf der bearbeiteten NiTi-Oberfläche kann dieses Risiko verringert werden. Dazu wurden neue Messreihen durchgeführt, wobei die Proben nach der Behandlung mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und KOH für 20 min in verschieden konzentrierte HCl gelegt

wurden. Die Konzentrationen der HCl waren 5 M, 1 M und 0.1 M. Es wurden jeweils zwei Proben pro Konzentration verwendet, wovon je eine danach mit HAP beschichtet wurde.

Bei der Behandlung mit HCl war zu beobachten, dass die grünliche Färbung der NiTi-Oberfläche, die durch die vorige chemische Bearbeitung wie immer entstanden war, durch die höher konzentrierte HCl verschwand. Bei Proben mit 5 M HCl war die Oberfläche nach wenigen Momenten bereits wieder blank wie vor der chemischen Bearbeitung, mit 1 M HCl dauerte es einige Minuten, bei 0.1 M HCl war keine Veränderung der Oberfläche sichtbar.

Nach erneutem Abspülen wurden die drei zu beschichtenden Proben jeweils in Standardtauchlösungen bei pH 7 mit HAP beschichtet, wobei zu bemerken ist, dass die augenscheinliche Änderung der Oberfläche keinen Einfluss auf die entstandene HAP-Schicht hatte, also die HAP-Schicht gut an der NiTi-Oberfläche anhaftete.

Die sechs mit HCl behandelten Proben, von denen drei mit HAP beschichtet waren, wurden nun wie zuvor beschrieben zur Nickelfreisetzung eingesetzt. Wie erwartet zeigten die mit HAP beschichteten NiTi-Proben keine messbare Nickelfreisetzung. Daher sind in Tabelle 2.1.5.2 nur die drei unbeschichteten Proben aufgeführt.

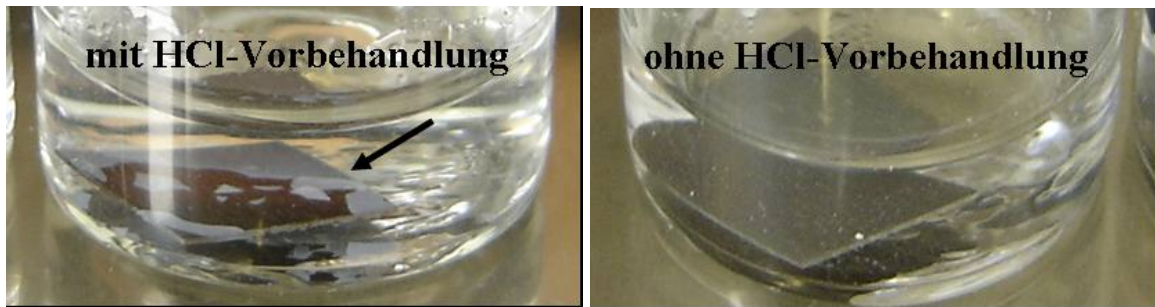
Tag	Dauer [d]	Ni-Freisetzung von geätztem und dann mit HCl bearbeitetem NiTi [ppb]					
		5 M HCl		1 M HCl		0.1 M HCl	
		insgesamt	tägliche	insgesamt	tägliche	insgesamt	tägliche
1	1	17.4	17.4	1460.0	1460.0	1480.0	1480.0
2	1	3.4	3.4	555.0	555.0	509.0	509.0
3	1	-		30.7	30.7	515.0	515.0
4	1	4.8	4.8	21.6	21.6	323.5	323.5
5	1	-		15.8	15.8	249.1	249.1
6	1	2.3	2.3	14.1	14.1	182.3	182.3
7	1	9.2	9.2	10.2	10.2	138.1	138.1
10	3	14.3	4.8	24.9	8.3	230.0	76.7
13	3	13.2	4.4	18.0	6.0	167.8	55.9
16	3	12.2	4.1	12.6	4.2	123.8	41.3
19	3	16.7	5.6	16.6	5.5	104.3	34.8
22	3	16.5	5.5	14.7	4.9	71.3	23.8
25	3	13.5	4.5	9.2	3.1	52.5	17.5
32	7	37.4	5.3	19.7	2.8	84.6	12.1
39	7	16.0	2.3	14.0	2.0	60.0	8.6

**Tabelle 2.1.5.2** Ni-Freisetzung aus mit HCl bearbeiteten NiTi-Proben (unbeschichtet)

Für die unbeschichteten Proben galt: Je höher die HCl-Konzentration während der Vorbehandlung war, desto weniger Nickel setzten die Proben nachher frei. Die Freisetzung war zwar etwas höher als die von reinem NiTi, aber wesentlich näher an diesem Wert, als an dem hohen Wert des chemisch bearbeiteten NiTi ohne HCl-Behandlung. Die zeitlichen

Verläufe der Freisetzen haben jeweils die typische Tendenz nach hohem Beginn stark abzufallen.

Aber ein Nachteil dieses Verfahrens ist, dass die der chemischen Bindung der Schicht zur Metalloberfläche offenbar geschwächt verringert wurde. Deshalb kam es in zwei Monate abdauernden Freisetzungsstudien zu einer Ablösung der Calciumphosphatschicht von der Metalloberfläche (siehe Abb. 2.1.5.1 links).



**Abbildung 2.1.5.1** abgeplatzte HAP-Schicht von der mit HCl vorbehandelten NiTi-Probe im Vergleich zur normal beschichteten NiTi-Probe (im Puffer; Untersuchung der Ni-Freisetzung)

Es lässt sich allerdings sagen, dass es trotz des Verlustes der Beschichtung bei einigen Proben nicht zu einer messbaren Erhöhung der Nickelfreisetzung kam. Das zeigt, dass so bearbeitetes und beschichtetes NiTi keine große Tendenz zur Freisetzung von Nickel zeigt, was ja die größte Sorge beim Einsatz dieses Materials als Implantatwerkstoff ist.

### **2.1.6 Cokristallisation mit Linezolid und Freisetzung**

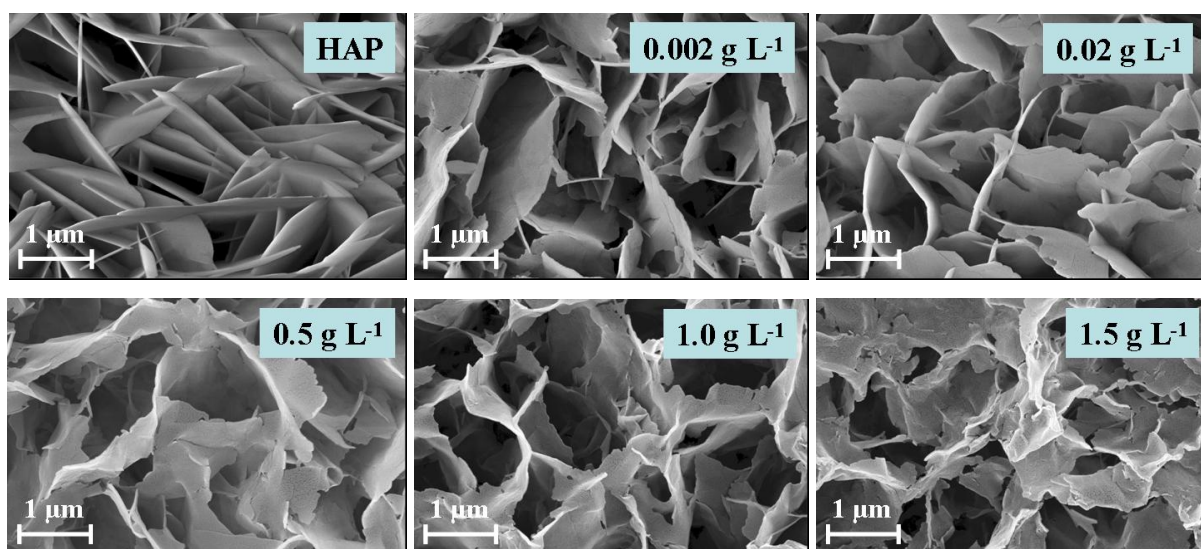
Ein weiterer Vorteil des Tauchprozesses für die Beschichtung von Implantaten ist die Möglichkeit der Einbringung von bioreaktiven Wirkstoffen wie Antibiotika, Proteinen oder anderen in oder auf die Calciumphosphatschicht. Das Einbauen in die Schicht lässt sich durch Cokristallisation aus einer gemeinsamen Tauchlösung erreichen, das Aufbringen auf die plättchenförmige Schicht durch einfaches Eintauchen der bereits beschichteten Probe in eine Wirkstofflösung.

Alle hier durchgeführten Arbeiten wurden auf dem von Natur aus biokompatiblen Titan durchgeführt, da nur Interaktionen mit den Beschichtungen von Interesse waren und andere Materialien wie NiTi nur weitere Fragen aufgeworfen hätten.

Linezolid wurde durch Cofällung in die HAP-Schicht eingebracht. Dazu wurde statt des reinsten Wassers, das üblicherweise für die HAP-Lösung verwendet wird, Linezolid-Lösung



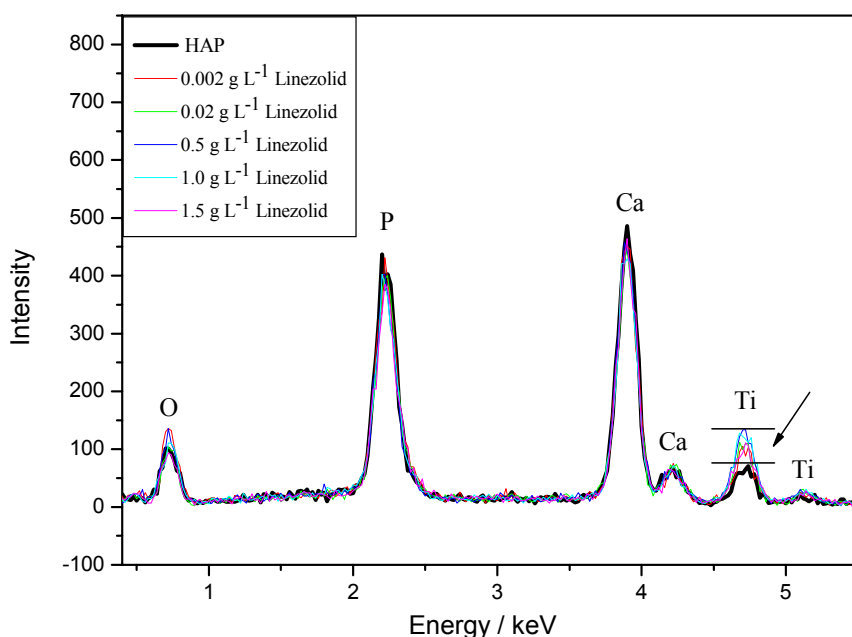
( $2 \text{ g L}^{-1}$ ) in fünf verschiedenen Konzentrationen eingesetzt: 1.86, 1.5, 1.0, 0.5 und  $0.02 \text{ g L}^{-1}$ . Die maximale Konzentration für den verwendeten Versuchsaufbau war  $1.86 \text{ g L}^{-1}$ , da die maximale Löslichkeit von Linezolid bei Raumtemperatur  $2 \text{ g L}^{-1}$  beträgt und in die Standard 100 mL-Gefäße noch  $2 \text{ mL PO}_4^{3-}$ - und  $3 \text{ mL Ca}^{2+}$ -Lösung, sowie noch ca.  $1.5 \text{ mL KOH}$ -Lösung zur Einstellung des pH-Werts gegeben werden mussten. Die Ti-Proben (ca.  $9 \times 9 \text{ mm}$ ) wurden nach der Standardmethode beschichtet, die Kristallisationszeit betrug jeweils 24 h. Alle Proben wurden mittels REM (Abb. 2.1.6.1) untersucht. Die Analysen zeigten Unterschiede, die in Richtung der Konzentrationsvergrößerung deutlicher wurden. Die plättchenförmigen HAP-Kristalle (bei Kontrollprobe) waren mehr und mehr defektbehaftet.



**Abbildung 2.1.6.1** REM-Aufnahmen: Veränderung der HAP-Morphologie durch Cofällung mit Linezolid

Zwischen den Kristallen waren keine Fremdstoffe zu sehen, was zu der Annahme führt, das Linezolid in die Beschichtung tatsächlich eingebaut wurde, und nicht nur auf der Oberfläche adsorbiert war, wie es durch Auftropfen geschehen würde.

EDX-Analysen (siehe Abb. 2.1.6.2) zeigten keine signifikanten Unterschiede. Bei allen Beschichtungen waren typische O, P, Ca und Ti-Peaks vorhanden. Nur die Beschichtung der Kontroll-Probe ohne Linezolid war dichter, was an der geringeren Intensität des Ti-Peaks zu sehen ist.



**Abbildung 2.1.6.2** EDX-Analyse: Alle Beschichtungen zeigen typische O, P und Ca Peaks. Geringere Intensität des Titanpeaks bei reinem HAP, da CaP Schicht dort am dicksten ist.

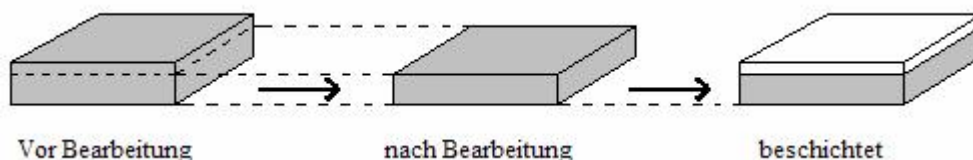
Um eine Tendenz der Freisetzungskinetik des Linezolid zu erhalten, wurden von den fünf zuvor verwendeten Konzentrationen drei zur Freisetzung gewählt und neue Proben nach dem Standardverfahren in Gegenwart der gewünschten Linezolidkonzentrationen hergestellt: 1.86 (Proben 1-5), 0.5 (Proben 6-10) und 0.02 (Proben 11-15) g L<sup>-1</sup> (siehe Tabelle 2.1.6.1). Dabei wurden auch bei jedem Arbeitsschritt Gewichtsmessungen vorgenommen. Die Ti-Proben wurden nach der Reinigung und vor der chemischen Bearbeitung gewogen, um den Substanzverlust durch die Ätzung und das Gewicht der HAP-Beschichtung zu bestimmen.

Es wurden je Ansatz vier Proben und eine Referenzprobe (Proben 5, 10 und 15) beschichtet, also 5 Proben pro Gefäß. Außerdem wurde noch ein Referenzgefäß ohne Linezolid mit zwei Proben (Proben 16, 17) benutzt, um festzustellen, ob das Linezolid die entstehende HAP-Beschichtung in irgendeiner Form beeinflusst. So wurden insgesamt 17 Proben in 4 Gefäßen beschichtet.

Die drei Linezolid enthaltenden Ansätze enthielten also neben einer Referenzprobe je 4 für die weitere Untersuchung wichtige Proben. Von diesen wurden zwei vor der chemischen Bearbeitung gewogen, wie üblich unter Wasser aufbewahrt und beschichtet. Die anderen beiden Proben wurden nach der chemischen Bearbeitung getrocknet, damit man den Substanzverlust durch die Ätzung bestimmen konnte. Nach der Beschichtung aller 4 Proben konnte bei den zwei zwischenzeitlich getrockneten Proben das genaue Gewicht der HAP-Beschichtung bestimmt werden.



Die beschriebene Vorgehensweise begründet sich mit dem Umstand, dass vor diesem Versuch unbekannt war, ob eine Trocknung nach der Ätzung die später entstehende HAP-Schicht verändern würde. Da nur zwei Proben getrocknet wurden, konnte man deren Beschichtung mit der der beiden nicht getrockneten Proben vergleichen, wobei kein augenscheinlicher Unterschied festgestellt wurde.



**Abbildung 2.1.6.3** Prinzip der Beschichtung

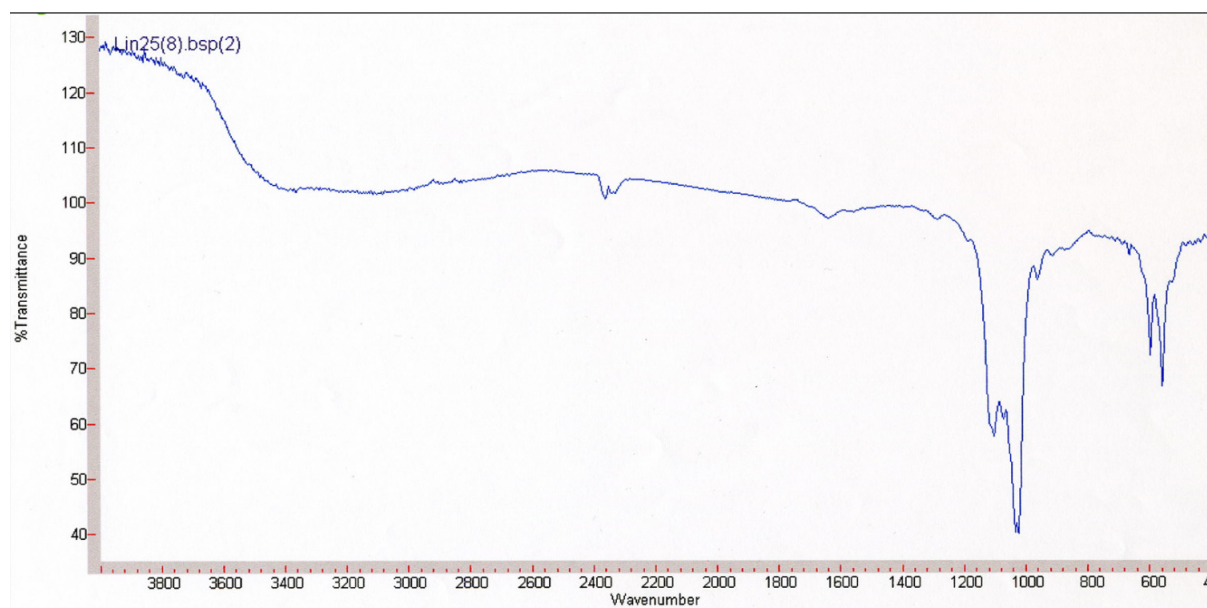
Probe		<i>m</i> (Ti) / mg		<i>m</i> (Ti+HAP) / mg	Titan		CaP-Schicht
		vor Bearb.	nach Bearb.	nach Beschichtung	Verlust / mg	Verlust / %	<i>m</i> / mg
1	<b>Linezolid 0.02 g L<sup>-1</sup></b> ΔpH 0.34	87.8	84.1	84.7	3.7	4.2	0.6
2*		86.0	82.0	82.6	4.0	4.7	0.6
3		83.3	-	80.4	-	-	-
4		83.5	-	80.1	-	-	-
6	<b>Linezolid 0.5 g L<sup>-1</sup></b> ΔpH 0.29	87.3	82.7	83.9	4.6	5.3	1.2
7*		86.2	81.3	82.7	4.9	5.7	1.4
8		89.3	-	85.1	-	-	-
9		82.9	-	78.8	-	-	-
11*	<b>Linezolid 1.86 g L<sup>-1</sup></b> ΔpH 0.27	87.2	83.8	84.6	3.4	3.9	0.8
12		86.4	82.7	83.5	3.7	4.3	0.8
13		86.0	-	83.2	-	-	-
14		85.1	-	82.2	-	-	-
16	<b>Kontroll HAP</b> ΔpH 0.16	85.7	81.5	82.4	4.2	4.9	0.9
17		85.6	-	82.5	-	-	-
				Mittelwert	<b>4.1</b>	<b>4.7</b>	<b>0.9</b>

**Tabelle 2.1.6.1** Massenberechnung der in Gegenwart von Linezolid mit HAP-beschichteten Ti-Proben: Einige Proben nach Bearbeitung getrocknet und gewogen, um so die Masse der CaP-Schicht festzustellen; restliche Proben nur vor Bearbeitung und nach Beschichtung gewogen, um mit getrockneten Proben zu vergleichen; Probe 2, 7 und 11 später zur Linezolid-Freisetzung herangezogen

Die in Tabelle 2.1.6.1 dargestellten Ergebnisse der Wägungen an verschiedenen Stellen des Versuchs zeigten, dass die Trocknung keinen sichtbaren Einfluss auf das Gewicht der entstehenden Beschichtung hatte. Auch die Kontrollproben 16 und 17, deren Tauchlösung kein Linezolid enthielt, zeigten keine sichtbaren Unterschiede zu linezolidhaltigen Proben (1-15).

Der Massenverlust des Titans nach der chemischen Bearbeitung liegt im Bereich von 4.7 %, die Masse der aufgetragenen Beschichtungen beträgt ungefähr 1 mg (siehe Tabelle 2.1.6.1), es sind keine Veränderungen durch den Anteil an Linezolid in der Tauchlösung sichtbar. Auch die Änderungen der pH-Werte (ca. 0.3) der verschiedenen Ansätze sind ähnlich, was dafür spricht, dass HAP hauptsächlich auf der Probenoberfläche entstanden ist. Daher ist die Änderung des pH-Werts beim Ansatz von Probe 16 und 17 etwas kleiner (0.16), da dort nur zwei statt fünf Proben beschichtet wurden.

Von je einer Probe aus jedem Ansatz wurde die Beschichtung abgekratzt und einer IR-Analyse (siehe Abb. 2.1.6.4) unterzogen. Dabei wurden im Vergleich zu einer rein anorganischen HAP-Probe (hier wie schon erwähnt eher OCP) neben den Phosphatbanden auch kleine organische Banden um  $1400\text{ cm}^{-1}$  (C=O-Banden von Carbonat) gefunden, die mit steigender Linezolidkonzentration größer wurden. C-H-Banden, die um  $2900\text{ cm}^{-1}$  auftreten müssten, waren nicht sichtbar. Die restlichen von der Schicht stammenden Banden änderten sich nicht merklich.



**Abbildung 2.1.6.4** IR-Spektren der CaP Beschichtung (Linezolidkonzentrationen  $0.5\text{ g L}^{-1}$ )

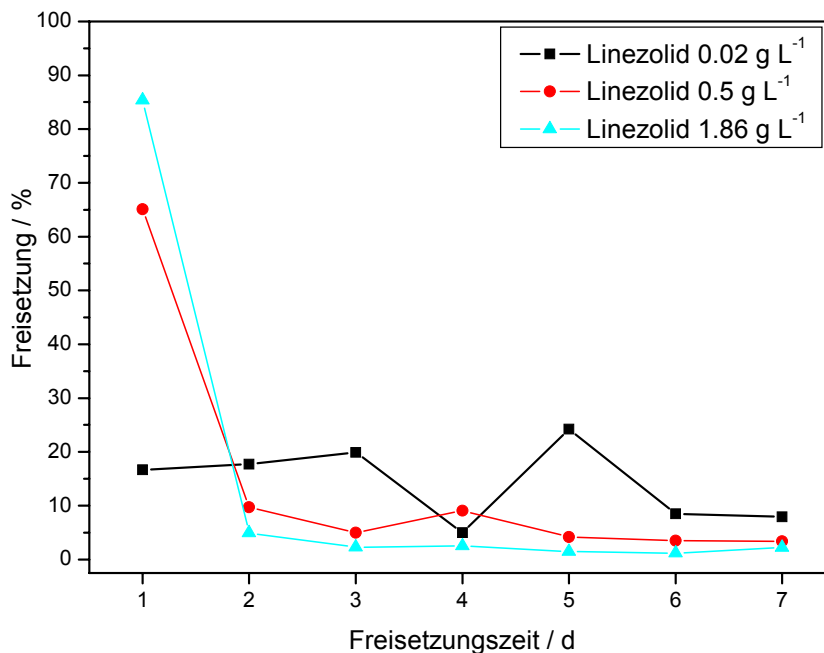
Bei den Proben 2, 7 und 11 (siehe Tabelle 2.1.6.2) wurde die Linezolidfreisetzung untersucht (siehe Abb. 2.1.6.5), je eine aus jedem Ansatz. Die Messungen des freigesetzten Linezolid mittels HPLC wurden in der Abteilung für Experimentelle Unfallchirurgie im Krankenhaus Bochum-Bergmannsheil von Köller et al. durchgeführt.

Es wurde ein Phosphatpuffer ( $0.1\text{ M NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.1\text{ M Na}_2\text{HPO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) verwendet, dessen pH-Wert mit NaOH auf 7.4 eingestellt wurde. Die gesamte Freisetzung fand bei  $37\text{ }^\circ\text{C}$

(Körpertemperatur) statt. Es wurde je ein mL Pufferlösung mit den liegenden beschichteten Titanplättchen in ein kleines Gefäß gegeben, nach 24 h wurde wieder abpipetiert und durch einen neuen mL Puffer ersetzt. Dieser Vorgang wurde 7 Tage lang wiederholt; die nun linezolidhaltigen Proben erhielten die Bezeichnungen 2a, 7a, 11a bis 2g, 7g, 11g. Die Proben wurden bis zur Bestimmung des Linezolidgehalts in einem normalen Kühlschrank aufbewahrt.

	0.02 g L <sup>-1</sup> (Probe 2)		0.5 g L <sup>-1</sup> (Probe 7)		1.86 g L <sup>-1</sup> (Probe 11)	
Dauer	<i>m</i> / µg	Anteil an Summe / %	<i>m</i> / µg	Anteil an Summe / %	<i>m</i> / µg	Anteil an Summe / %
1 Tag (a)	0.1202	16.7	0.5104	65.1	1.7281	85.4
2 Tag (b)	0.1273	17.7	0.0757	9.7	0.0994	4.9
3 Tag (c)	0.1430	19.9	0.0393	5.0	0.0464	2.3
4 Tag (d)	0.0359	5.0	0.0711	9.1	0.0510	2.5
5 Tag (e)	0.1741	24.2	0.0327	4.2	0.0295	1.5
6 Tag (f)	0.0611	8.5	0.0277	3.5	0.0246	1.2
7 Tag (g)	0.0571	7.9	0.0268	3.4	0.0445	2.2
Summe	0.7187	100	0.7837	100	2.0235	100

**Tabelle 2.1.6.2** Linezolidmassen nach Freisetzung der mit HAP beschichteten Ti-Proben in je 1 mL Puffer und prozentualer Anteil der Einzelmassen an insgesamt freigesetzter Masse.



**Abbildung 2.1.6.5** Graphische Darstellung der Linezolidfreisetzung: prozentualer Anteil der Einzelmassen an insgesamt freigesetzter Masse.

Die in Tabelle 2.1.6.2 dargestellten Linezolid-Massen sind nicht absolut sondern nur tendenziell aussagekräftig, da nur relative Werte erhalten wurden. Die im Folgenden

dargestellten Prozentangaben und der Vergleich zwischen den drei Messreihen sind jedoch korrekt.

In der obigen Tabelle sind die einzelnen Proben mit ihrem jeweiligen Linezolidgehalt dargestellt. Dazu wurden die nach 7 Tagen freigesetzten Mengen aufsummiert und dann dargestellt, wie die Freisetzung bei den verschiedenen Proben zeitlich verlief. Dabei wird sichtbar, dass die Proben, die von einem Titanplättchen stammen, das in einer Lösung mit einer hohen Linezolidkonzentration beschichtet wurde, auch eine höhere Linezolidfreisetzung zeigen. Am einfachsten lässt sich dies an der Summe der innerhalb von 7 Tagen freigesetzten Mengen an Linezolid vergleichen. Probe 11, die in einer Tauchlösung mit  $1.86 \text{ g L}^{-1}$  Linezolid-Lösung mit HAP beschichtet wurde, setzte insgesamt  $2.0235 \text{ }\mu\text{g}$  frei. Dagegen setzte Probe 7, die in einer Tauchlösung mit  $0.5 \text{ g L}^{-1}$  Linezolid-Lösung beschichtet wurde, nur  $0.7837 \text{ }\mu\text{g}$  frei. Bei Probe 2, deren Tauchlösung nur  $0.02 \text{ g L}^{-1}$  Linezolid-Lösung enthielt, ist der Wert mit  $0.7187 \text{ }\mu\text{g}$  noch geringer, allerdings fällt auf, dass der Abfall dieser Werte nicht linear ist (siehe Abb. 2.1.6.5). Obwohl die Tauchlösung von Probe 11 93-mal mehr Linezolid als die von Probe 2 enthielt, wurde trotzdem nur knapp dreimal mehr Linezolid freigesetzt. Probe 7, deren Tauchlösung 25-mal mehr Linezolid enthielt, setzte nur ca. 10 % mehr Linezolid frei als Probe 2.

Dies macht deutlich, dass Linezolid nur zu einem gewissen Anteil in die HAP-Schicht eingebaut wird und dass es sinnlos ist, dessen Konzentration immer weiter zu erhöhen. Unterstrichen wird diese Behauptung noch durch das zeitliche Profil der Freisetzung. Während bei den Proben 7 und 11 die überwiegende Menge schon in den ersten 24 h freigesetzt wird, besitzt die Freisetzung bei Probe 2 ein zuerst langsam steigendes und später wieder fallendes Profil.

Vergleicht man die Werte genauer, so erkennt man sogar, dass die Probe mit der kleinsten Linezolidkonzentration in ihrer Tauchlösung nach dem ersten Tag höhere Linezolidkonzentrationen liefert, als die beiden Proben mit mehr Linezolid in der Tauchlösung. Bei Probe 2 wurde das Linezolid offenbar wirklich in die HAP-Schicht eingebaut, wohingegen sich bei den anderen Proben fast alles auf der Oberfläche befand. Als dieses einmal verbraucht war, konnte nicht mehr freigesetzt werden. Die freigesetzte Linezolidmenge reichte allerdings bei keiner der Proben für eine medizinische Anwendung aus (mindestens  $4 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$  nötig).

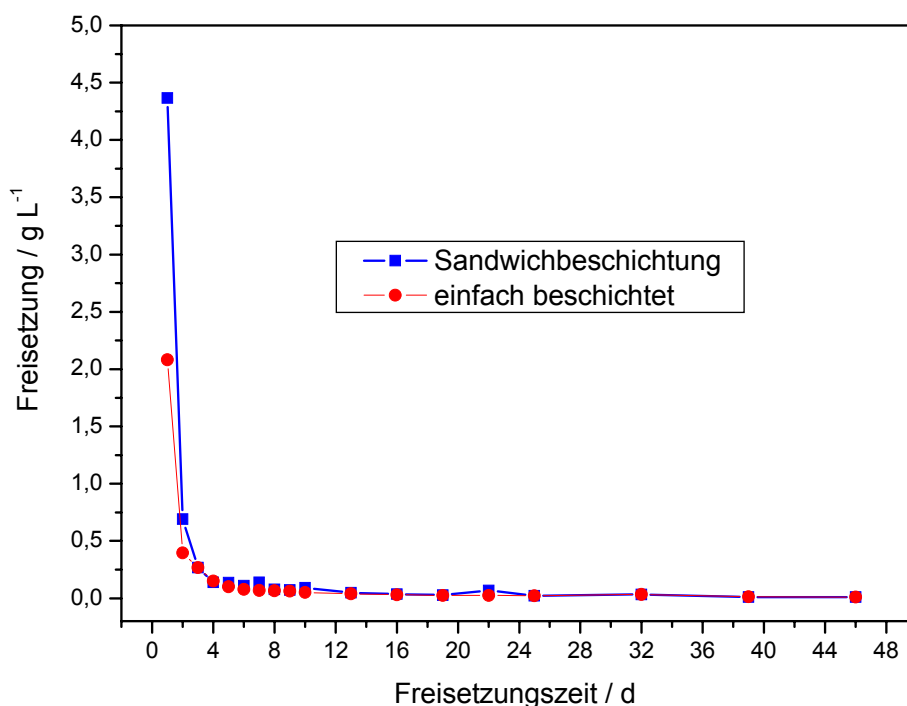
Aus diesem Grund wurde der neue Ansatz des Sandwichmodells entwickelt. Es sollte versucht werden, nach der ersten linezolidhaltigen Beschichtung einen zweiten Tauchversuch mit linezolidhaltiger Calciumphosphatlösung durchzuführen, allerdings in einem kleineren

Volumen (2 mL im Gegensatz zu 100 mL), damit das schon vorhandene Linezolid nicht in der zweiten Tauchlösung freigesetzt wird. Da in beiden Ansätzen die größtmögliche Konzentration verwendet werden sollte ( $1.86 \text{ g L}^{-1}$ ), wäre bei der zweiten Beschichtung eventuell teilweise gelöstes Linezolid wieder in der Beschichtung kokristallisiert. Die Kristallisation ist ein kontinuierlicher Prozess, sodass gehofft wurde, dass die zweite Schicht die untere erste Schicht langsam versiegeln würde und damit die Linezolidfreisetzung verlangsamen würde.

Um zu untersuchen, ob sich die Freisetzung durch mehrmalige Beschichtung tatsächlich verbessern läßt, wurden die Proben zweimal beschichtet. Dazu wurde ein 50 mL-Ansatz verwendet. Außerdem wurden alle Proben vor jedem Arbeitsschritt getrocknet und gewogen. Die zweite Schicht war etwas schwerer (ca. 1.0 mg) als die erste Schicht (ca. 0.7 mg). Allerdings wurde beim Eintauchen der einmal beschichteten Proben in die zweite Lösung beobachtet, dass sich weiße Schlieren bildeten und kleine Stückchen von der Oberfläche ablösten. Es wird vermutet, dass es sich dabei um auf der Oberfläche befindliches Linezolid gehandelt hat. Die unternommenen Freisetzungsversuche, bei denen neben einer Sandwichprobe auch eine einfach beschichtete linezolidhaltige Referenzprobe je 46 Tage lang freigesetzt wurde, lieferten folgende Ergebnisse:

Dauer / d	Linezolidfreisetzung / $\text{g L}^{-1}$	
	Sandwich	einfach
1	4.367	2.081
2	0.69	0.395
3	0.267	0.266
4	0.138	0.151
5	0.137	0.101
6	0.111	0.077
7	0.14	0.069
8	0.077	0.066
9	0.071	0.064
10	0.092	0.05
13	0.048	0.039
16	0.036	0.03
19	0.028	0.024
22	0.07	0.024
25	0.022	0.023
32	0.034	0.035
39	0.011	0.014
46	0.01	0.009

**Tabelle 2.1.6.3** Linezolid-Freisetzung in Puffer aus einfacher und Sandwichbeschichtung; verwendete in Tauch CaP-Lösung Linezolidkonzentration  $1.86 \text{ g L}^{-1}$

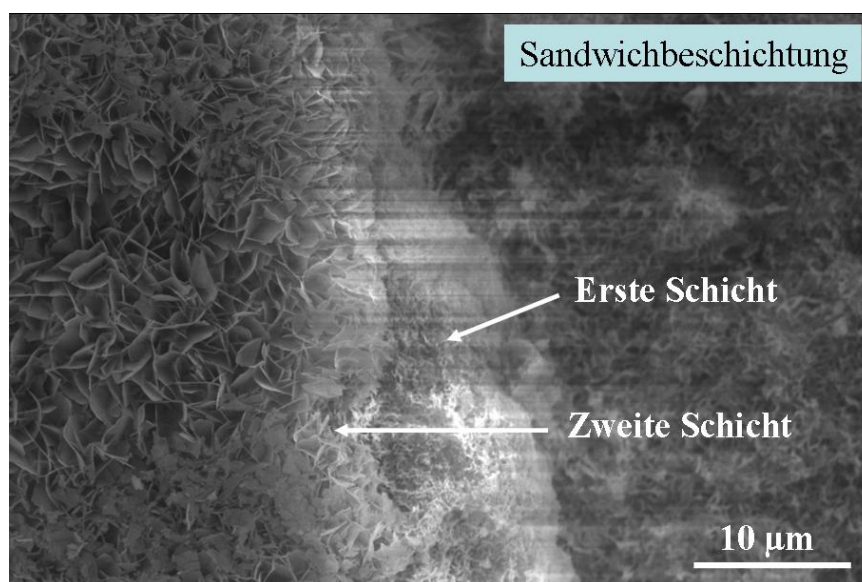


**Abbildung 2.1.6.6** Graphische Darstellung der Linezolid-Freisetzung aus einfacher und Sandwichbeschichtung; verwendete in Tauch CaP-Lösung Linezolidkonzentration  $1.86 \text{ g L}^{-1}$

Der Hauptunterschied war die erhöhte Linezolidfreisetzung der Sandwichprobe an den ersten beiden Versuchstagen. Dort war die freigesetzte Menge mehr als doppelt so hoch (erster Tag) bzw. annähernd doppelt so hoch (zweiter Tag). Danach fallen beide Freisetzungskurven praktisch ineinander, sodass kein Unterschied mehr zwischen der einfach beschichteten und der Sandwichprobe erkennbar ist. Addiert man die Freisetzungswerte zu einer Gesamtsumme auf, so wird deutlich, dass die Sandwichprobe ca. 75 % mehr Linezolid freisetzte als die Referenzprobe (siehe Tabelle 2.1.6.3).

Zu erklären ist dieses Verhalten mit der Reaktion des in der ersten Schicht eingebrachten Linezolids mit der zweiten Beschichtung der Sandwichprobe. Beim zweiten Eintauchen löste sich das Linezolid der ersten Schicht teilweise (weiße Schlieren), wodurch die Linezolidkonzentration der zweiten Tauchlösung noch erhöht wurde, weshalb die zweite Beschichtung noch mehr Linezolid aufnahm. Bei der anschließenden Freisetzung setzte diese zweifach beschichtete Probe mehr Linezolid frei als die einfach beschichtete, vermutlich weil die Wassermoleküle der Pufferlösung in der Lage waren, die offenporigen Beschichtungen zu durchdringen und damit das Linezolid aus beiden Schichten herauszulösen. Über die Wägungen war nachgewiesen worden, dass die zweite Beschichtung mindestens genauso schwer war wie die erste. Auf REM-Aufnahmen (siehe Abb. 2.1.6.7) ist zu sehen, dass beide Schichten eine vergleichbare Dicke aufweisen. Somit ist es nur logisch, dass die

Sandwichprobe mehr Linezolid enthält, jedoch nicht exakt doppelt soviel, da bei der zweiten Beschichtung ein Anteil aus der ersten Beschichtung verloren geht. Dieser Verlust führt vermutlich auch zur Ähnlichkeit der Freisetzungskurven im weiteren Verlauf des Versuchs. Dadurch hat die obere HAP-Schicht im Vergleich zur unteren einen erhöhten Linezolidanteil, der bei der Freisetzung aufgrund einer besseren Durchspülung mit Lösungsmittel stärker freigesetzt wird. Die Freisetzung der Sandwichproben am ersten Tag lieferte im Vergleich zur Referenzprobe einen doppelt so hohen Linezolid-Wert. Die bis zum Versuchsende freigesetzte Gesamtmenge an Linezolid war jedoch nur ca. 75 % größer. Dies macht klar (siehe Tabelle 2.1.6.3), dass die Sandwichprobe zu Beginn einen größeren Prozentanteil des in ihr enthaltenen Linezolids abgibt (ca. 63 %) als die einfach beschichtete Probe (ca. 50 %). Durch diese schnellere Abgabe in den ersten Tagen nähern sich die Freisetzungskurven immer mehr an, bis sie nach 20 Tagen schließlich übereinander liegen.



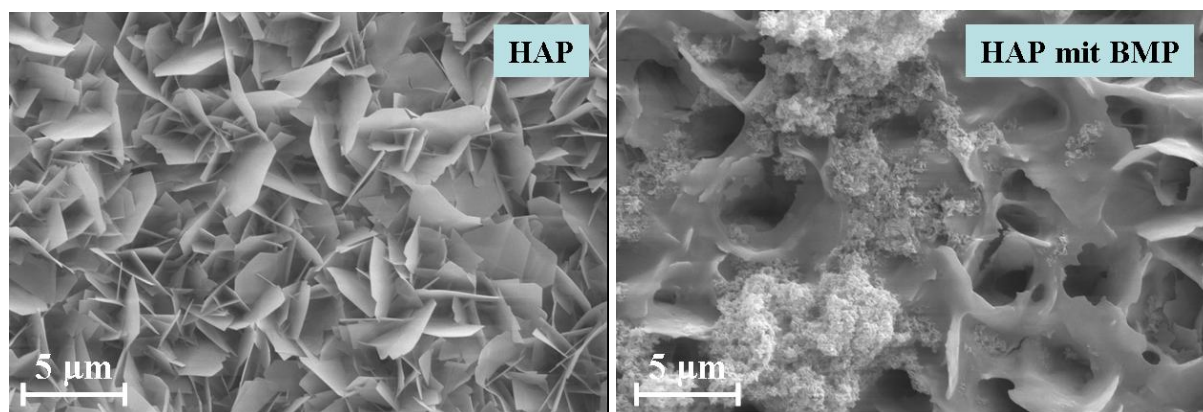
**Abbildung 2.1.6.7** REM-Aufnahme einer Linezolid-haltigen Sandwichbeschichtung

Diese Ergebnisse führen zu der Aussage, dass die hier auf einfachem Wege hergestellten Sandwichproben noch nicht ausreichend entwickelt sind, um die Linezolidfreisetzung wirksam zu verzögern. Noch immer wird der Großteil in den ersten beiden Tagen freigesetzt (ca. 70 %) und noch immer sind die Wirkstoffkonzentrationen nicht ausreichend, um physiologisch von Bedeutung zu sein. Es wird noch zuwenig Linezolid in die Calciumphosphatschicht eingebaut, die Hauptmenge bleibt in der Tauchlösung zurück.



### 2.1.7 Aufbringung von BMP-4 auf Calciumphosphat und Freisetzung

Eine weitere Wirkstofffreisetzung wurde mit dem Protein BMP-4 (sorgt für das Wachstum früher Knorpelstadien) durchgeführt. Bei den Versuchen sollte untersucht werden, inwieweit eine auf eine Hydroxylapatitschicht getropfte BMP-Lösung nach ihrem Eintrocknen und dem Einstellen in eine Pufferlösung BMP freisetzen kann. Aufgrund der hohen Kosten des BMP-4 konnte keine Cokristallisation durchgeführt werden, da alles zur Verfügung stehende BMP-4 auch wirklich auf bzw. in die Calciumphosphatschicht gelangen musste. Bei Cokristallisation wäre ein großer Anteil in der Tauchlösung geblieben. Außerdem besitzt die Hydroxylapatitschicht eine plättchenförmige Morphologie, die als Adsorbens fungieren kann, sodass Auftropfen schon ausreichen würde, um ein Eindringen des BMP in die Poren zu ermöglichen (siehe Abb. 2.1.7.1). Im Gegensatz dazu haben HAP-Beschichtungen nach dem Plasmaspray-Verfahren eine Morphologie, die an verfestigte Tropfen erinnert (siehe Abb. 2.3.1.2) und nur sehr wenige Poren besitzt.



**Abbildung 2.1.7.1** HAP-Beschichtung mit und ohne BMP-4

Für die durchgeführten Versuche wurden nach der Standardmethode mit HAP beschichtete Titanproben (ca. 8×8 mm) verwendet.

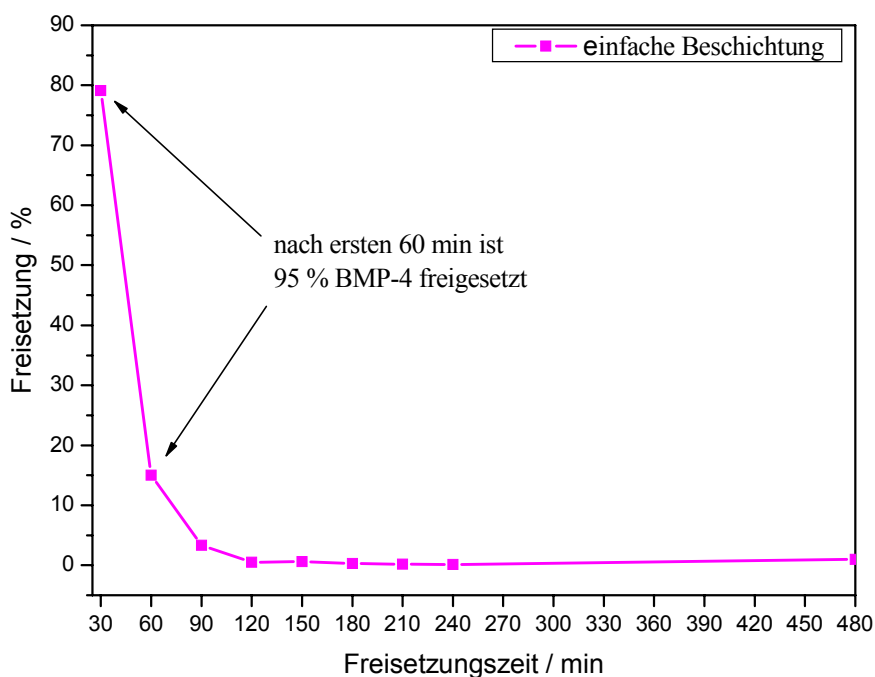
Um die komplette Menge BMP-4 (0.1 mL bei  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) auf die Probe aufzubringen, wurden zuerst 0.05 mL so zugetropft, dass nichts an den Seiten herunterlief. Dieses Volumen war durch Vorversuche mit Wasser ermittelt worden. Die nun feuchte Probe wurde bei  $37^\circ\text{C}$  in den Trockenschrank gestellt, bis nach 2 h die Lösung eingetrocknet war. Dann wurde ein zweiter 0.05 mL Tropfen auf die Probe aufgetropft, der dann ebenfalls im Trockenschrank eingetrocknet wurde, bis nach 3 h die HAP-Schicht wieder komplett hellweiß war und ein



Tropfenrand mit dem bloßen Auge zu erkennen war. Insgesamt wurde also 1 µg auf die Probe aufgebracht.

Die anschließende Freisetzung wurde im Trockenschrank bei 37 °C durchgeführt. Die Probe wurde in 1 mL Phosphatpuffer (pH 7.4) gelegt, der nach 30 min abpipettiert und durch einen frischen mL Puffer ersetzt wurde. Dieser Vorgang wurde 8 h lang wiederholt (16 Proben). Aufgrund des kleinen Volumens konnte der Puffer währenddessen nicht gerührt werden. Zusätzlich zu den genommenen Proben wurde noch eine Kontrollprobe angesetzt, die aus 0.9 mL Pufferlösung und 0.1 mL BMP-Lösung zusammengesetzt war. Durch Vergleich mit dieser Kontrollprobe wurde die Freisetzung mittels ELISA gemessen.

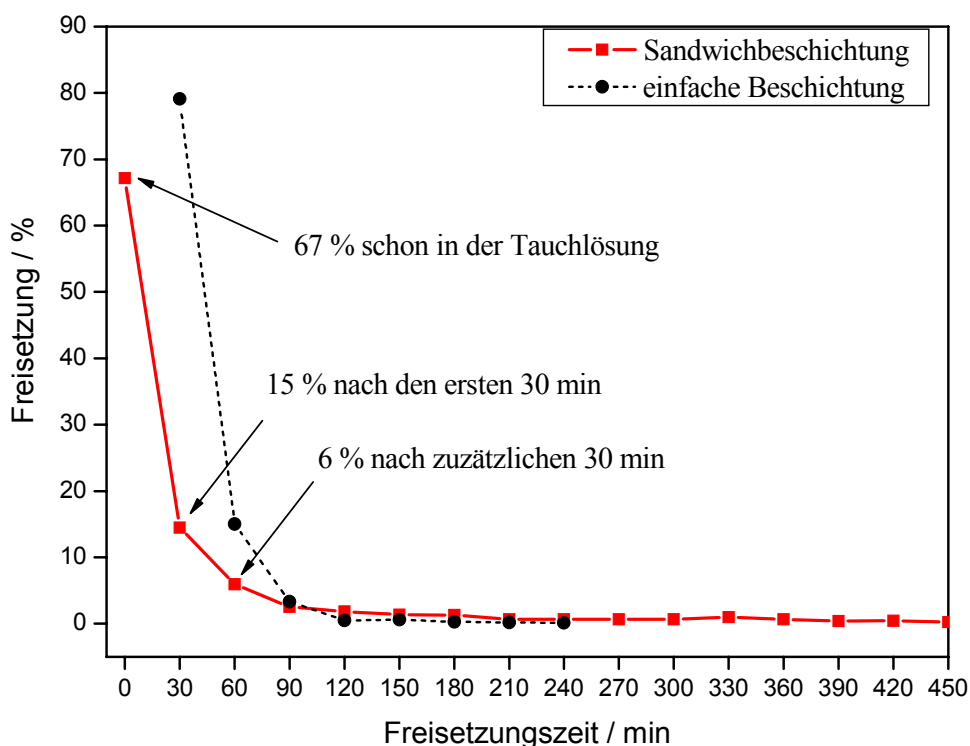
Ebenso wie beim Linezolid muss betont werden, dass die durch die ELISA-Methode erhaltenen Zahlenwerte nicht absolut sind, aber korrekte Tendenzen des Freisetzungsverlaufs zeigen. Es wurde gezeigt (siehe Abb. 2.1.7.2), dass nach 60 min schon der Großteil (95 %) des BMP-4 freigesetzt war: In den ersten 30 min 80 %, in den folgenden 30 min ca. 15 %.



**Abbildung 2.1.7.2** Zeitlicher Verlauf der prozentualen Freisetzung von BMP-4 aus der einfachen HAP-Beschichtung (100 % entspricht der Gesamtfreisetzung)

Diese sehr schnelle Freisetzung ist für medizinische Zwecke unvorteilhaft, da der Wirkstoff praktisch sofort ins Gewebe gelangt, als hätte man ihn injiziert. Gewünscht und medizinisch brauchbar wäre eine langsame (z. B. 2 Wochen) und gleichmäßige Freisetzung, die für eine permanent gleich hohe Konzentration an BMP im Knochendefekt sorgt. In diesem Fall könnte das BMP den Heilungsprozess bzw. die Remodellierung des Knochens unterstützen.

Zu diesem Zweck wurde auch ein Sandwichmodell ausprobiert, mit dessen Hilfe das BMP auf der ersten Schicht festgehalten werden sollte, um die Geschwindigkeit der Freisetzung zu verlangsamen und somit ihre Dauer zu verlängern: Eine wie oben beschrieben mit BMP-4 behandelte Probe wurde nach dem Eintrocknen des BMP-4 für 12 h in eine zweite HAP-Tauchlösung (nur 1 mL) getaucht, um die BMP-Schicht zu schützen. Nach Ende des Tauchprozesses wurde die Tauchlösung abpipettiert und wie die anderen Proben gemessen. ELISA-Untersuchungen zeigten (siehe Abb. 2.1.7.3), dass die Freisetzung dieser Sandwichprobe einen ähnlichen zeitlichen Verlauf zeigte, wie die zuvor gemessene Probe. In den der Tauchlösung wurden ca. 70 % freigesetzt, bei der eigentlichen Freisetzung nach 30 min ca. 15 % und nach weiteren 30 min noch 6 %. Dieser Verlauf dieser Freisetzungskurve ist zwar etwas flacher, doch noch immer werden 90 % des BMP-4 direkt zu Versuchsbeginn freigesetzt.



**Abbildung 2.1.7.3** Zeitlicher Verlauf der prozentualen Freisetzung von BMP-4 aus der Sandwichbeschichtung (100 % entspricht der Gesamtfreisetzung)

Eine weitere Möglichkeit zur Freisetzung einer größeren Menge BMP ist die Erhöhung der Kristallinität der ersten HAP-Schicht, was z. B. durch längeren Aufenthalt in der Tauchlösung oder Hochtemperaturbehandlung der nach 24 h entstandenen Schicht zu erreichen ist. Eine höhere Kristallinität würde die Adsorption von BMP verbessern und somit auch die Freisetzung erhöhen und unter Umständen auch die Freisetzung verlangsamen.

Beim Sandwichmodell würde eine höhere Kristallinität der ersten Schicht zu einer höheren Adsorption führen. Die so beschichtete Probe könnte in eine zweite BMP-haltige Calciumphosphatlösung getaucht werden und damit die stärker adsorbierende Schicht schützen.

### 2.1.8 Beschichtung von Stahlproben

Weil in der Medizin auch andere Metalle verwendet werden, wurde versucht, ob das Tauchverfahren auch bei anderen metallischen Werkstoffen zu zufrieden stellenden Beschichtungen führt.

Von Prof. Jan D. Dabrowski Aus Polen wurden zwei Serien zylindrische Stahlproben mit jeweils 6 Exemplaren erhalten: Die C-Serie (poliert) aus Gussstahl 316 LVM und die S-Serie (rau) aus gesintertem Stahl der gleichen Sorte.

Alle Proben wurden nach dem Standardverfahren für Ti geätzt (siehe Kapitel 2.1.1).

Die ersten so geätzten Proben C11 und S11 wurden in jeweils 100 mL HAP Standardtauchlösung (3 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , 2 mM  $\text{PO}_4^{3-}$ , pH 7) gestellt und nach 24 h herausgenommen und abgespült. Dabei zeigte sich, dass Probe C11 gleichmäßig gut beschichtet wurde (siehe Abb. 2.1.8.1, 2.1.8.2), was bei S11 nicht der Fall war. Die Tauchlösung von S11 war sehr trüb geworden und ihr pH war bis auf 11 gestiegen.

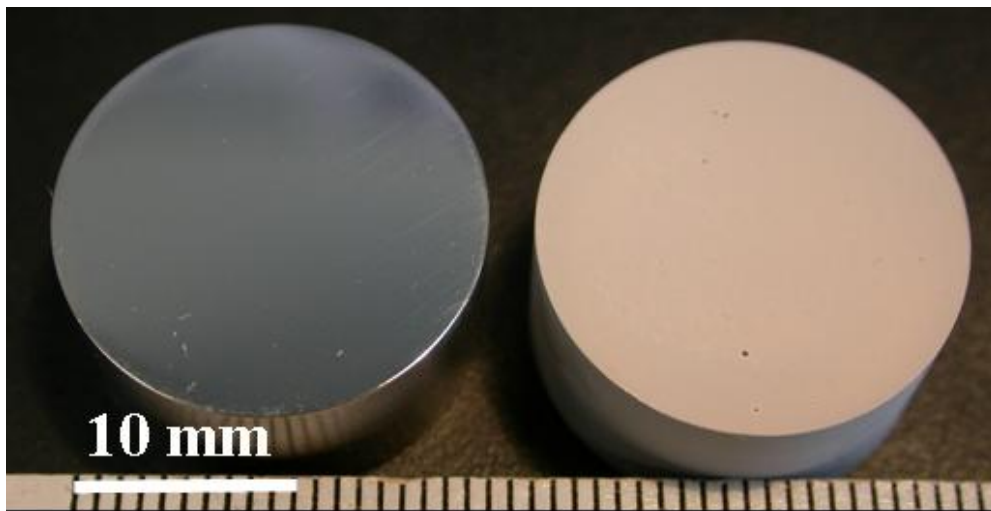
Offenbar war ein Teil der Ätzlösung in die Poren der gesinterten Probe eingedrungen und dann in der Tauchlösung freigesetzt worden. Die Erhöhung des pH-Wertes führte zur Auskristallisation des HAP in der Tauchlösung und nicht auf der Probenoberfläche, weshalb die Probe nur wenig und unregelmäßig beschichtet wurde.

Deshalb wurde die Probe in ein 600 mL Becherglas mit ca. 0.5 L dest.  $\text{H}_2\text{O}$  5 min ins Ultraschallbad gestellt. Der pH-Wert stieg in dieser kurzen Zeit von ca. 7 auf 11, daher wurde dieser Vorgang ca. 2 h lang immer wieder wiederholt, bis sich der pH-Wert des Waschwassers nicht mehr änderte.

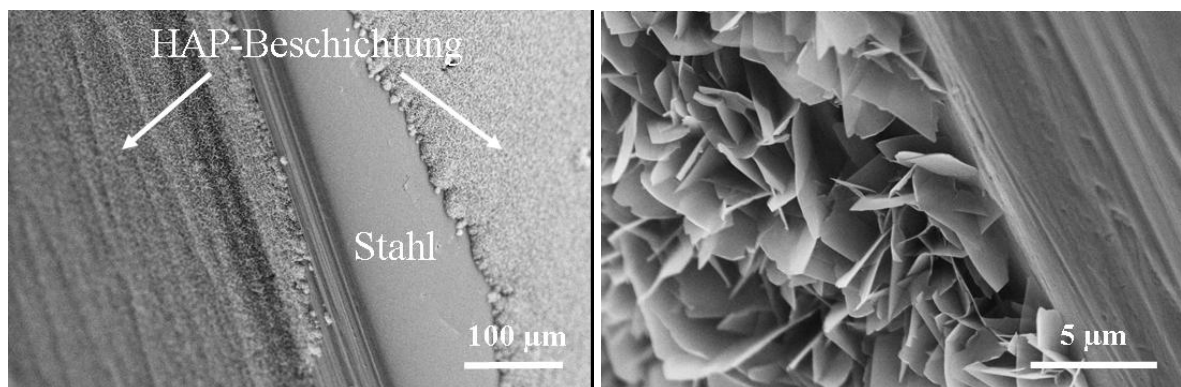
Dann wurde erneut versucht die Probe wie zuvor zu beschichten und nach 24 h zeigte sich der Erfolg: Die Probe war gleichmäßig beschichtet, die Tauchlösung war noch klar und der pH-Wert hatte sich nur wenig geändert.

Die folgenden Proben der S-Serie wurden dann von vornherein immer so lange gewaschen bis sich keine pH-Wertänderung des Waschwassers mehr zeigte.

So konnten je 5 Proben beider Serien mit nur jeweils einer Ausnahme zufrieden stellend beschichtet werden.



**Abbildung 2.1.8.1** Photos der ursprünglichen (links) und beschichteten (rechts) Stahlproben der C-Serie



**Abbildung 2.1.8.2** REM-Aufnahme: Kante der beschichtete Stahlprobe der C-Serie

Dies ist als Nachweis zu werten, dass das durchgeführte Tauchverfahren auch mit anderen Werkstoffen als nur Titan und seinen Legierungen zu HAP-Beschichtungen führt.

### 2.1.9 Zusammenfassung

Nach der Untersuchung der Calciumphosphatkristallisation auf metallischen Werkstoffen lassen sich folgende Aussagen treffen:

1. Mit Hilfe der *dip-coating*-Methode können chemisch gebundene Beschichtungen von Calciumphosphaten auf metallischen Oberflächen hergestellt werden, die teilweise auch nach mechanischer Belastung auf der Oberfläche bleiben.
2. Durch Einstellung der Kristallisationsbedingungen können gewünschte Calciumphosphatphasen auskristallisiert werden.
3. Auch Körper mit komplizierter Geometrie (poröse Struktur) oder temperaturempfindliche Stoffe können so beschichtet werden.
4. In-vitro-Experimente zeigen, dass die erhaltenen Calciumphosphatbeschichtungen die Biokompatibilität des beschichteten Werkstoffs verbessern.
5. Nickelfreisetzen aus Nitinol<sup>®</sup> können durch eine solche Beschichtung verringert werden.
6. Wegen der milden Kristallisationsbedingungen besteht die Möglichkeit Wirkstoffe in die Beschichtung einzubringen, um so die Biokompatibilität bzw. –aktivität weiter zu erhöhen.

## 2.2 FAP-Kristallisation aus der Lösung

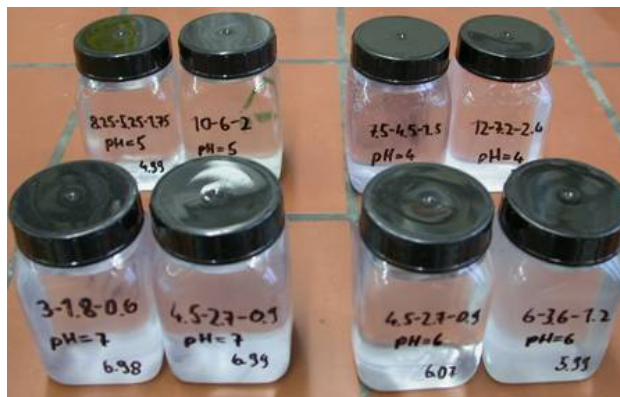
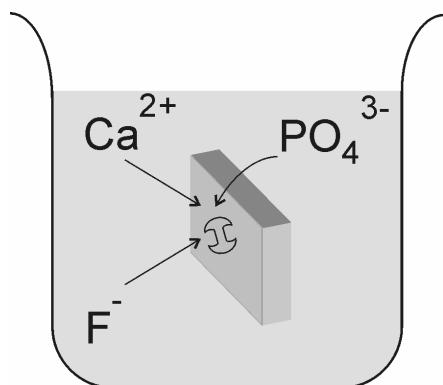
Das Biomineral Fluorapatit wird untersucht, weil es als anorganische Komponente von Haizähnen und Exoskeletten von Mollusken von biologischem Interesse ist<sup>[262, 263]</sup>. Dazu könnten in Zukunft Möglichkeiten entstehen, durch Karies verletzte Zahnoberflächen durch fluoridhaltige Calciumphosphate teilweise zu regenerieren<sup>[96, 264]</sup>. In dieser Arbeit wurde vor allem die Untersuchung der Mineralisation des FAP in den Vordergrund gestellt, um Biomineralisationsprozesse besser zu verstehen.

Um solche Kristallisationsprozesse besser zu verstehen, werden u. a. Diffusionsanlagen verwendet, um das Wachstum von knochenähnlichen Calciumphosphaten zu untersuchen. In solchen Anlagen kann das Kristallwachstum langsam und regelmäßig erfolgen, weil die Calcium- und Phosphationen durch eine hydrophile Matrix diffundieren müssen, bevor sie aufeinander treffen. Zusätzlich lassen sich Einflüsse anderer Ionen auf die Kristallisation beobachten, wie z. B. Fluorid, das zu Fluorapatit  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  führt. Die während solcher Diffusionsprozesse bei bestimmten Bedingungen entstehenden Kristalle besitzen eine spezielle hantelförmige Morphologie. An dieser Morphologie lassen sich zeitabhängige Wachstumsvorgänge beobachten, die zum Verständnis von Biomineralisationsvorgängen beitragen können.

### 2.2.1 Experimentelle Durchführung

Experimentell ähnelte die Beschichtung der in Plastikprobenhaltern stehenden chemisch bearbeiteten Titanproben (siehe Kapitel 2.1.1) mit FAP der Methode, die für HAP schon beschrieben wurde (siehe Kapitel 2.1.2). Die 0.1-molare Calciumlösung wurde mit Calciumacetathydrat und die 0.1-molare Phosphatlösung mit Kaliumdihydrogenphosphat angesetzt. Zur Einstellung des pH-Wertes wurde 0.1-molare KOH oder 0.1-molare  $\text{HNO}_3$  verwendet.

Der Unterschied zu HAP war die Zugabe der Fluoridlösung, 0.1 M zubereitet aus KF, zur ebenfalls anionischen Phosphatlösung. Dabei wurde bis auf wenige Ausnahmen das Verhältnis  $\text{Ca}:\text{PO}_4:\text{F} = 5:3:1$  gewählt, da dieses der stöchiometrischen Zusammensetzung des Fluorapatits  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  entspricht.



**Abbildung 2.2.1.1** links: Schematische Darstellung der stehenden Ti-Proben in FAP-Lösung; rechts: Foto von verwendeten 100 ml Gefäßen

Im Unterschied zum HAP, wo vor allem ein Ansatz immer wieder benutzt wurde, wurden beim FAP viele verschieden konzentrierte Ansätze in einem weiten pH-Bereich untersucht, um das Auftreten der verschiedenen Morphologien des FAP zu untersuchen.

Das Volumen der Tauchlösung, die wegen eventueller Trübungen ca. 30 min stehen gelassen wurde, betrug immer 100 mL und der pH-Wert wurde immer vor der Calciumzugabe eingestellt, wozu teilweise Vorversuche unternommen werden mussten. Wenn also beispielsweise bei pH 3 beschichtet werden sollte, wurden Fluorid- und Phosphatlösung in die nötige Menge Reinstwasser gegeben, dann wurde genau soviel  $\text{HNO}_3$  hinzugegeben, dass nach der folgenden Zugabe von Calciumlösung der pH-Wert möglichst genau 3 betrug. Die jeweils nötige Menge Säure oder Lauge zur Einstellung des gewünschten pH-Werts wurde immer genau vermerkt, um später Ionenstärke und Übersättigung berechnen zu können (siehe Kapitel 2.2.4). Auch die Änderung des eingestellten pH-Werts im Verlauf des Versuchs wurde gemessen, da sich mit ihr Aussagen über die Güte der Beschichtung treffen ließen. Zu große Änderungen oder Änderungen in die falsche Richtung zeigten, dass der Versuch nicht korrekt funktioniert hatte und eventuell wiederholt werden musste.

Für die später beschriebenen Versuche mit Polymeren (siehe Kapitel 2.2.2.2) wurden PET-Polymergefäße in ca.  $1.5 \times 1.5$  cm große Stücke zerschnitten, in Ethanol und  $\text{H}_2\text{O}$  gereinigt, und in die Tauchlösung gelegt. Nach dem Ende des Versuchs wurden die mit FAP beschichteten Titanproben jeweils aus den Tauchlösungen genommen und mit Wasser abgespült, allerdings nicht die Polymerproben, da dort die FAP-Kristalle nicht chemisch an die Oberfläche gebunden waren. Die noch feuchten Proben wurden bei  $37^\circ\text{C}$  im Trockenschrank getrocknet.

Die Aufenthaltszeit der Proben in der Tauchlösung wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit Kristallisationszeit genannt.

## **2.2.2 Die verschiedenen Morphologien des FAP**

### **2.2.2.1 Die verschiedenen Morphologien des FAP auf Titan**

Die Entstehung von Fluorapatitkristallen aus FAP-Lösung auf metallischen Substraten oder Polymeren hängt hauptsächlich vom pH-Wert und der Übersättigung ab. Sekundäre Einflüsse sind die chemische Zusammensetzung der Lösung, Zusätze zur Lösung und die Kristallisationszeit.

Zur Untersuchung des Einfluss des pH-Werts wurden übersättigte Lösungen eingesetzt, deren Ionenkonzentration bei einem bestimmten pH-Wert genau so hoch war, dass noch keine Kristallisation in der Lösung eintrat. Diese wurden über stufenweise Senkung der Ionenkonzentration bei gleich bleibendem pH-Wert ermittelt, da bei zu hoher Konzentration die Lösung durch ausfallende FAP-Kristalle trüb wird.

In diesen sogenannten übersättigten Grenzlösungen tritt die Kristallisation langsam ein, deshalb kann man bei ihnen den Verlauf des Kristallwachstums verfolgen, während man bei zu schneller Kristallisation wegen zu hoher Konzentration nur die Endprodukte erhält.

Eine chemisch bearbeitete Titanoberfläche zieht die Ionen aus der Lösung an (siehe Kapitel 2.1.2), wodurch auf der Oberfläche das Wachstum einsetzt, bevor die Kristalle langsam ausfallen. Unterbricht man den Kristallisationsprozess zu unterschiedlichen Zeiten, indem man die Proben einfach aus der Tauchlösung herausnimmt, so kann man die unterschiedlichen Wachstumsstadien der Kristalle untersuchen und die Kristallisationszeit des FAP bestimmen.

Im Rahmen dieser Arbeiten wurde die FAP-Kristallisation auf Titanproben im pH-Bereich von pH 3.0 bis 10.5 untersucht. In jede FAP-Lösung wurden zu Vergleichszwecken einige Titanproben eingetaucht. Es wurde vom biologisch wichtigen neutralen pH 7 ausgegangen und in zwei Reihen (aufwärts und abwärts) in regelmäßigen Schritten der pH-Wert geändert.

Da es bei einem pH 7.4 und darüber zu keiner FAP-Beschichtung mehr kommt (siehe Abb. 2.2.4.3), wurde in den danach durchgeführten Versuchsreihen der Ausgangs-pH-Wert von 7.0 schrittweise um jeweils 0.5 bis hinab zu 3.0 gesenkt. Bei jedem neuen pH-Werten wurde ausprobiert, wo die Grenze liegt, also die Ionenkonzentration, ab der es zum spontanen Ausfallen der FAP-Kristalle kommt. Daraus entstand die in Tabelle 2.2.2.1.1 dargestellte Reihe von Ionenkonzentrationen und dazugehörigen pH-Werten.



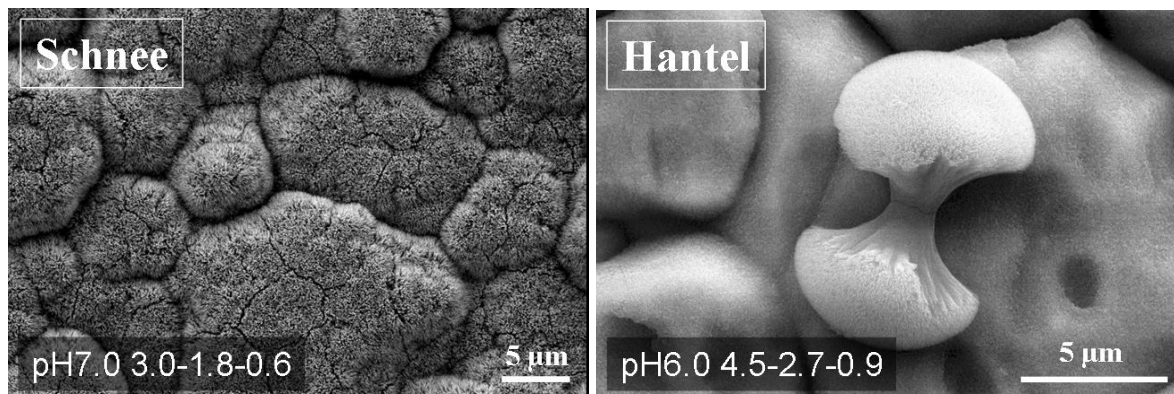
Im weiteren Verlauf dieses Kapitels werden die Ionenkonzentrationen der Fluorapatitlösung nach folgendem Prinzip vereinfacht:  $\text{Ca}^{2+}$  5 mM,  $\text{PO}_4^{3-}$  3 mM,  $\text{F}^-$  1 mM entspricht „5-3-1“.

<b>Ca</b>	3.00	3.75	4.50	5.25	6.00	6.75	7.50	8.25	9.00
<b>P</b>	1.80	2.25	2.70	3.15	3.60	4.05	4.50	4.95	5.40
<b>F</b>	0.60	0.75	0.90	1.05	1.20	1.35	1.50	1.65	1.80
<b>pH(0)</b>	6.89	6.45	5.96	5.48	5.01	4.51	4.06	3.47	3.02
<b>pH(12)</b>	6.66	4.52	5.43	5.40	5.06	4.49	3.73	3.24	2.87

**Tabelle 2.2.2.1.1** Ionenkonzentrationen der FAP-Lösungen mit Ti-Proben; Anfangs-pH-Werte (0) und End-pH-Werte (12) nach 12 h

Durch REM-Untersuchung konnte nachgewiesen werden, dass bei sinkendem pH-Wert vier verschiedene Morphologien auftreten.

Bei hohen pH-Werten (pH 5.5-7.0) kristallisiert FAP in den in diesen Arbeiten besonders ausführlich untersuchten nicht-kompakten Morphologien, die sich aus spitzen Kristallstrukturen zusammensetzen (siehe Abb. 2.2.2.1.1).

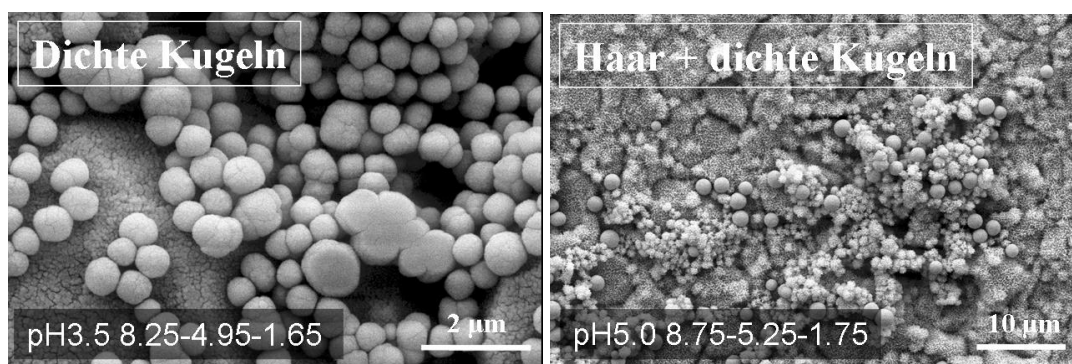


**Abbildung 2.2.2.1.1** REM-Aufnahmen: Teppich- und Hantelmorphologie des FAP auf Ti bei pH 7.0 und 6.0; Kristallisationszeit 12 h

Bei pH 7.0 liegt der so genannte Schneeteppich vor, der die Titanoberfläche komplett bedeckt, wobei ihre Struktur aber immer noch zu sehen ist. Dies bedeutet einerseits, dass die Schicht dünn ist (bis 5 µm) und andererseits, dass sie eng an die Oberfläche gebunden sein muss, da sie sonst die Oberflächenstruktur verdecken würde.

Bei pH 6.0 haften einzelne hantelförmige Kristalle auf der Titanoberfläche, deren Wachstum mit einem einzelnen nadelförmigen Kristallkeim beginnt. Die Spitzen an den Enden wachsen auseinander, bis sie zu abgeschlossenen „flauschigen“ Kugeln geworden sind (siehe Abb. 2.2.7.1.1). Die Hanteln nach 12 h (Abb. 2.2.2.1.1) haben eine Größe von ca. 4-8 µm.

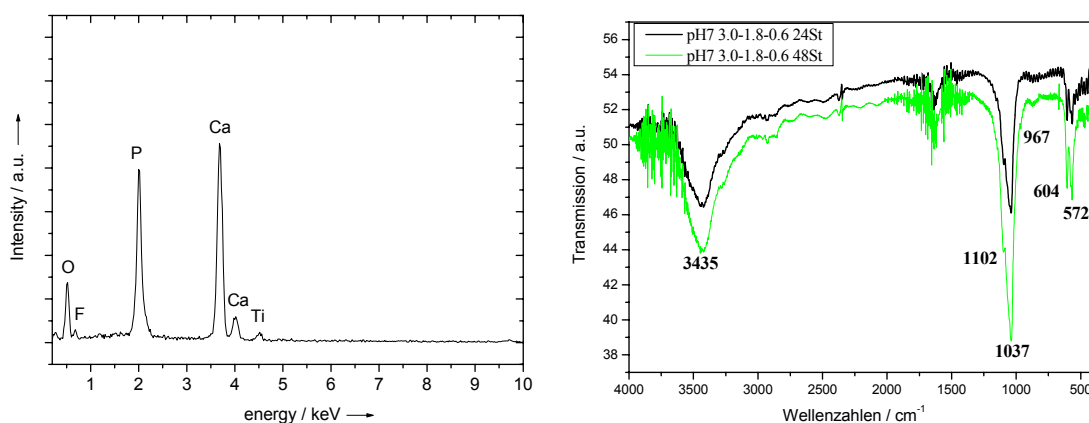
Bei niedrigeren pH-Werten (pH 3.0-4.0) entsteht eine kompakte Morphologie (siehe Abb. 2.2.2.1.2) aus dichten kleinen Kugeln (ca. 1-2  $\mu\text{m}$ ). Zusätzlich entstehen im Übergangsbereich zu den nicht-kompakten Morphologien (pH 4.0-5.5) dünne haarförmige Strukturen. Die dichten Kugeln entstehen auch im Übergangsbereich (pH 4.0-5.5), allerdings nur bei ausreichender Ionenkonzentration. Die ursprüngliche lineare Konzentrationsreihe lieferte bei den nicht übersättigten Proben um pH 5 keine dichten Kugeln, sondern nur haarförmige Strukturen. Erst nach Erhöhung der Ionenkonzentration wurden auch dort dichte Kugeln gefunden.



**Abbildung 2.2.2.1.2** REM-Aufnahme: dichte Kugeln (pH 3.5) und dichte Kugeln mit Haar (pH 5.0); Kristallisationszeit 12 h

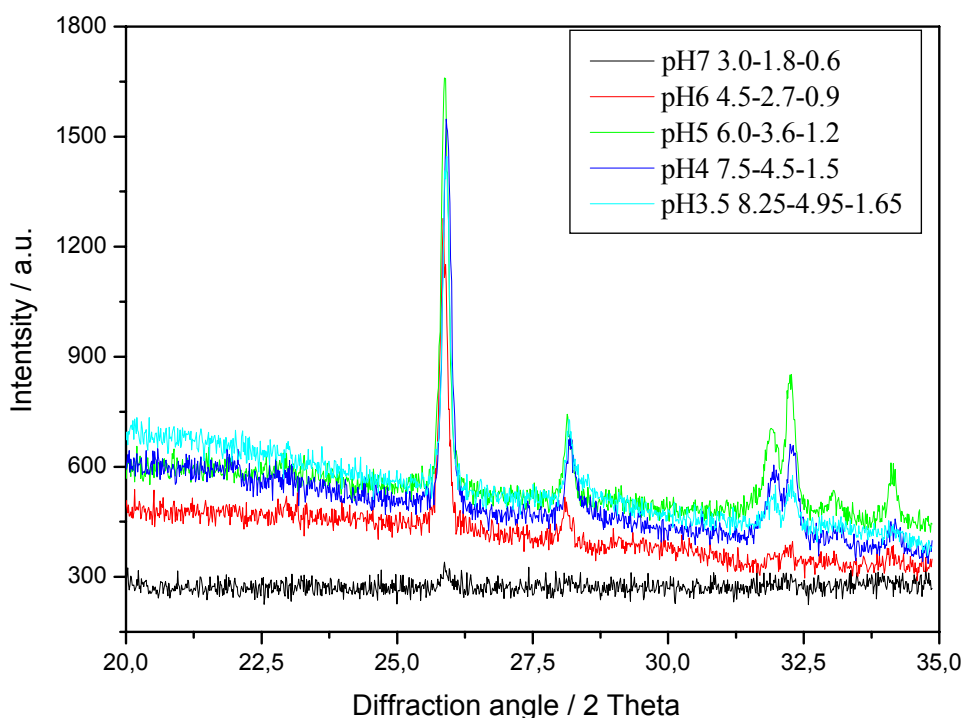
Durchgeführte XRD-, EDX- und IR-Analysen haben zusammen gezeigt, dass es sich bei allen vier gefundenen Morphologien um Fluorapatit handelt (siehe Abb. 2.2.2.1.3, 2.2.2.1.4).

Die EDX-Analyse zeigte dazu, dass in den Kristallen neben Calcium, Phosphor und Sauerstoff auch Fluor vorhanden ist. IR-Analysen zeigten typische Apatitbanden, im Unterschied zu HAP ist die OH-Schwingung bei  $630\text{ cm}^{-1}$  nicht zu sehen.



**Abbildung 2.2.2.1.3** links: EDX-Analyse von FAP zeigt Ca, P, O und F; rechts: IR-Analysen des FAP zeigt typische Apatitbanden

Die XRD-Analyse zeigt, dass alle Kristalle eine FAP-Gitterstruktur besitzen, jedoch muss dabei gesagt werden, dass nur schwierig zwischen FAP und HAP zu unterscheiden ist und die Aufnahmen aufgrund der dünnen abgekratzten Schicht nur von begrenzter Qualität sind.



**Abbildung 2.2.2.1.4** XRD-Analysen: bei verschiedenen pH-Werten hergestellte Beschichtungen bestehen jeweils aus FAP

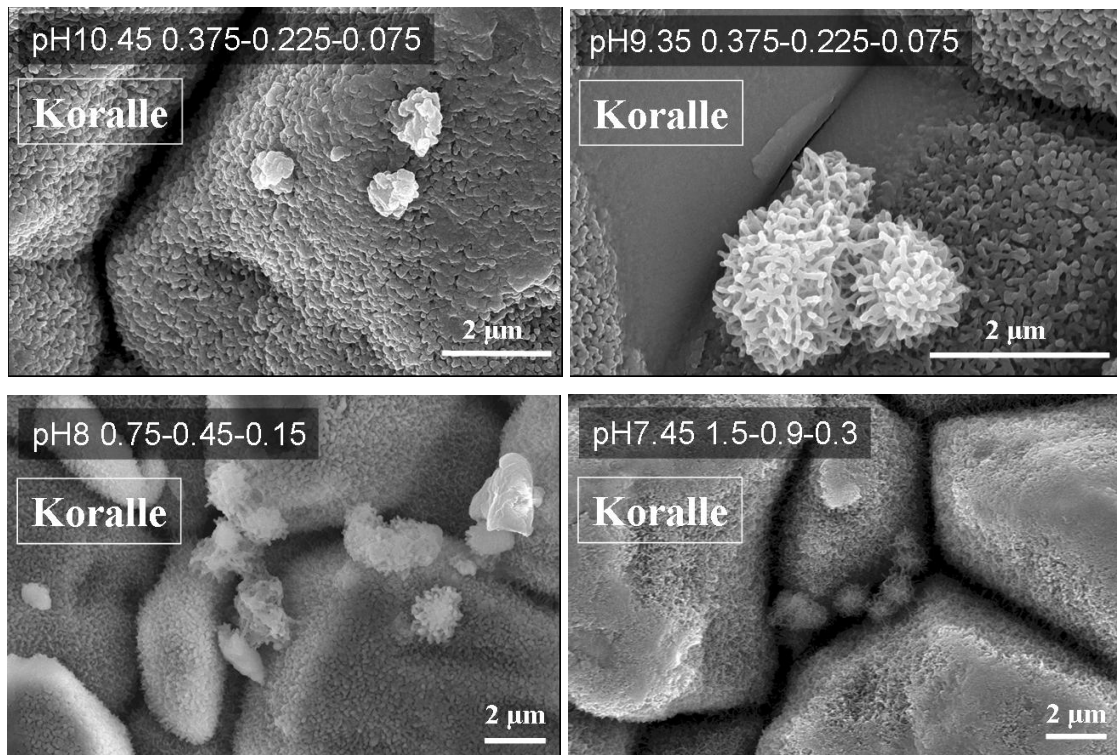
Zur Überprüfung der im basischen Bereich auftretenden FAP-Morphologien, wurden Versuche im pH-Bereich von 7.45-10.5 durchgeführt. Die Konzentrationen lagen nicht mehr in der linearen Reihe, wie in Tabelle 2.2.2.1.1, sie wurden experimentell als maximale Grenzkonzentration für jeden pH-Wert bestimmt (siehe Tabelle 2.2.2.1.2).

<b>Ca</b>	0.375	0.375	0.75	1.50
<b>P</b>	0.225	0.225	0.45	0.90
<b>F</b>	0.075	0.075	0.15	0.30
<b>pH(0)</b>	10.45	9.35	7.94	7.45
<b>pH(24)</b>	10.66	8.20	5.99	5.62

**Tabelle 2.2.2.1.2** Ionenkonzentrationen der FAP-Lösungen mit Ti-Proben bei hohen pH-Werten; Anfangs-pH-Werte (0) und End-pH-Werte (24) nach 24 h

Bei diesen Versuchen wurde eine weitere, korallenartige Morphologie gefunden (siehe Abb. 2.2.2.1.5), es kann jedoch nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich dabei wirklich um Fluorapatit handelt. Diese Korallenstrukturen waren so klein (unter 1  $\mu\text{m}$ ) und dazu noch sehr

selten auf der Oberfläche, so dass es unmöglich war, diese abzukratzen und zu untersuchen. Es konnte daher nicht geprüft werden, ob es sich um eine fünfte FAP-Morphologie handelt.



**Abbildung 2.2.2.1.5** REM-Aufnahmen: Korallenmorphologie auf Ti; Kristallisationszeit 24 h

Mit den durchgeführten Versuchen auf Titan und den so erhaltenen Morphologien wurde bewiesen, dass keine organische Matrix für das Wachstum des FAP nötig ist.

### 2.2.2.2 Die verschiedenen Morphologien des FAP auf Polymer

Durch Beobachtungen während der Beschichtungen von Titanproben in Gefäßen aus Polymer wurde vermutet, dass FAP auch ohne die ionenziehende Titanatschicht auf der Oberfläche entsteht. Meist wurde nämlich nach 24 h auch auf den Gefäßwänden FAP gefunden und nicht nur auf den Proben. Deshalb wurde untersucht, ob sich die Morphologien des FAP bei entsprechenden Konzentrationen und pH-Werten ändern, wenn statt der chemisch bearbeiteten Titanproben nur Polymerstücke in die Tauchlösungen gelegt wurden.

Dafür wurden jeweils die pH-Werte (4.0, 5.0, 6.0, 7.0) und entsprechenden Konzentrationen untersucht, bei denen in den vorigen Versuchen mit Titan die verschiedenen Morphologien gefunden wurden. Die in der FAP-Lösung liegenden Polymerstücke wurden nach der

Kristallisation mit den ausgefallenen Kristallen darauf herausgenommen und im REM untersucht (siehe Abb. 2.2.2.2.1 und 2.2.2.2.2).

Obwohl keine chemische Bindung zwischen Polymeroberfläche und FAP-Kristallen bestand, konnten die Polymerstücke zugeschnitten werden, ohne dass die FAP-Schicht abplatzte. Nur an den Schnittflächen gab es einen geringen Verlust; der Rest der Schicht blieb haften. Bei der Auswertung der Ergebnisse der FAP-Kristallisation aus der Lösung wurden ähnliche Morphologien wie bei der Kristallisation auf der Titanoberfläche gefunden, jedoch nicht exakt dieselben.

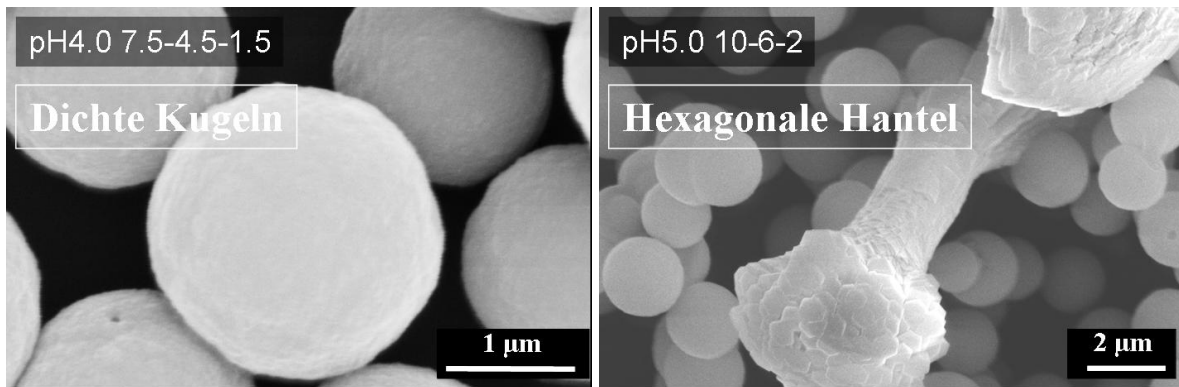
Für jeden pH-Bereich wurden je zwei Ionenkonzentrationen verwendet, einmal dieselbe, wie bei den Titanversuchen und dazu eine etwas erhöhte, um mehr Kristalle zu erhalten.

<b>Ca</b>	7.5	12	8.25	10.0	4.5	6.0	3.0	4.5
<b>P</b>	4.5	7.2	5.25	6.0	2.7	3.6	1.8	2.7
<b>F</b>	1.5	2.4	1.75	2.0	0.9	1.2	0.6	0.9
<b>pH(0)</b>	3.98	3.98	4.99	5.02	6.07	5.99	6.90	6.99
<b>pH(24)</b>	3.92	3.92	4.96	4.96	5.99	5.26	5.33	5.32

**Tabelle 2.2.2.2.1** Ionenkonzentrationen der FAP-Lösungen mit Polymeren; Anfangs-pH-Werte (0) und End-pH-Werte (24) nach 24 h.

Bei pH 4.0 (siehe Abb. 2.2.2.2.1 links) wurden bei gleicher Konzentration die dichten kleinen Kugeln (ca. 1-2  $\mu\text{m}$ ) gefunden, dazu jedoch auch eine andere Art der dichten Morphologien, eine sternförmige Kristallstruktur. Bei erhöhter Ionenkonzentration wurden einfach nur mehr Kristalle erhalten, eine Änderung des Verhältnisses von Kugeln zu Sternen wurde nicht beobachtet, daher wurde auf diese Bilder verzichtet. Übereinstimmend mit den Titanversuchen kann gesagt werden, dass bei kleinem pH-Wert nur kompakte Morphologien entstehen.

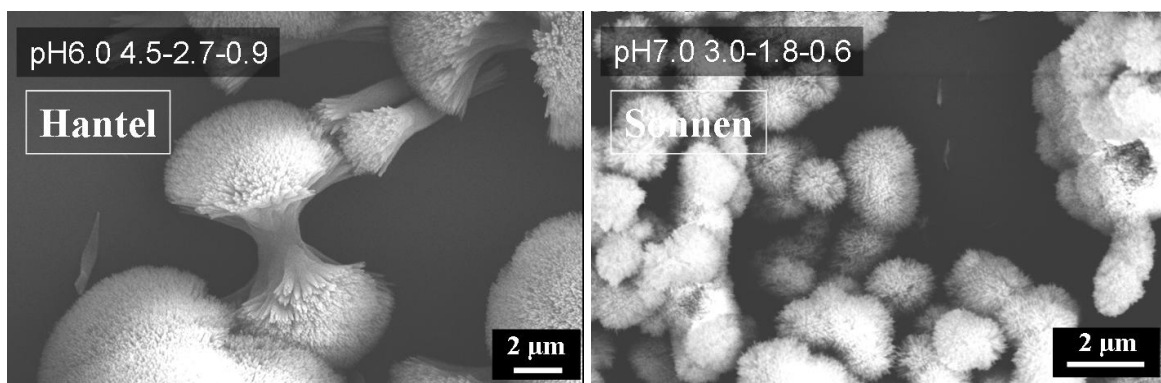
Bei pH 5.0 (siehe Abb. 2.2.2.2.1 rechts) zeigte die erhöhte Konzentration zur kompakten Struktur der dichten Kugeln auch hexagonale Prismen (ca. 10-12  $\mu\text{m}$ ), deren Enden zu Hanteln auseinander wuchsen. Diese Hanteln waren von Größe her denen ähnlich, die zuvor beim Titan beobachtet worden waren und im Gegensatz zu hexagonalen aus nadelförmigen Kristallen aufgebaut waren. Das Auseinanderwachsen der Kristallenden bis zur Kugelbildung wurde jedoch nicht beobachtet, was zur Vermutung führt, dass die Kristallisation ohne Titan langsamer ist, denn dort wurden schon nach 12 h Kugeln gefunden.



**Abbildung 2.2.2.2.1** REM-Aufnahmen: FAP-Morphologien bei pH 4.0 (dichte Kugeln) und pH 5.0 (dichte Kugeln + hexagonale Hanteln) auf Polymer; Kristallisationszeit 24 h

Bei pH 6.0 (siehe Abb. 2.2.2.2.2 links) ist wie bei pH 4.0 der einzige Unterschied zwischen normaler und erhöhter Konzentration, dass bei letzterer mehr Kristalle erhalten wurden. Wie bei den Versuchen mit Titan wurden nur die nicht-kompakten „flauschigen“ Kugeln (ca. 12 µm) gefunden, die sich aus nadelförmigen Kristallen über die Hantelform schließen. Es wurden praktisch übereinstimmende Ergebnisse wie bei den Titanversuchen gefunden.

Bei pH 7.0 (siehe Abb. 2.2.2.2.2 rechts) wurden bei der niedrigeren Konzentration rundliche Gebilde (ca. 1-2 µm) bestehend aus den bekannten nadelförmigen Kristallen gefunden, die von einem Zentrum ausgehend in alle Richtungen wachsen, ähnlich wie Sonnenstrahlen. Bei genauerer Suche auf zuvor hergestellten FAP-Beschichtungen auf Titan wurden diese Sonnen ebenfalls gefunden, als zweite Kristallgeneration auf dem so genannten Schneeteppich oder teilweise im Teppich (siehe Abb. 2.2.4.2).



**Abbildung 2.2.2.2.2** REM-Aufnahmen: FAP-Morphologien bei pH 6.0 (Hanteln und „flauschige“ Kugeln) und pH 7.0 (sonnenförmige Strukturen) auf Polymer; Kristallisationszeit 24 h

Vor den Versuchen ohne Titan war davon ausgegangen worden, dass die FAP-Kristalle wachsen, weil die negativ polarisierte Titanatschicht Calciumionen anzieht und die dadurch entstehende lokal erhöhte Calciumkonzentration die FAP-Kristallisation ermöglichte.

Die Versuche mit Polymeren zeigten, dass keine Kristallisationshilfe, ob organische Matrix oder chemisch bearbeitete Titanoberfläche, nötig ist, damit sich FAP-Kristalle bei diesen Konzentrationen und pH-Werten bilden. Die Ionen sind in der Lage, selbst Kristallisationskeime zu bilden und die Ausfällung einzuleiten (homogene Keimbildung).

Durch die Versuche mit Polymeren wurde das Verständnis des Kristallwachstums des FAP verbessert, weil keine Interaktionen mit der Titanoberfläche mehr berücksichtigt werden mussten und bei näherem Nachdenken auch die Unterschiede zumindest in einigen Bereichen erklärt werden konnten.

### **2.2.3 Einfluss der Kristallisationskeimen auf die weitere Kristallisation**

Da aus vorigen Versuchen bekannt war, dass die Entstehung der verschiedenen Morphologien pH-Wert abhängig waren, sollte untersucht werden, ob die Kristallisationskeime eines pH-Werts Einfluss auf die Kristallisation bei einem anderen pH-Wert Einfluss hatten.

Die Versuche wurden vor allem durchgeführt, weil es in von anderen Forschern eingesetzten Diffusionsanlagen mit organischen Membranen im Verlauf der FAP-Kristallisation zu Änderungen des pH-Werts kam, welche jedoch nicht quantifiziert werden konnten<sup>[265, 266]</sup>.

Daher war es unbekannt, warum und in welcher Reihenfolge die in diesen Anlagen auftretenden verschiedenen FAP-Morphologien (dichte Kugeln, Hanteln, usw.) entstanden.

Es wäre möglich, dass die zuerst entstandenen Kristallisationskeime beim Anfangs-pH-Wert=7.0 das weitere Kristallwachstum bei fallendem pH-Wert bestimmen, oder dass der pH-Wert allein für die jeweilige Morphologie verantwortlich ist.

Für die Versuche wurde die in Kapitel 2.2.2.1 in Tabelle 2.2.2.1.1 bereits dargestellte lineare Reihe von Fluorapatitlösungen mit Grenzkonzentrationen verwendet. Es wurden 9 Lösungen mit linear fallendem pH-Wert und linear steigender Ionenkonzentration eingesetzt (siehe Tabelle 2.2.3.1), die jeweils frisch angesetzt wurden. Es wurde beim höchsten pH-Wert=7.0 mit 9 geätzten Titanproben begonnen, von denen nach 12 h jeweils eine entfernt, die übrigen jedoch ohne Abspülen in die nächste Lösung mit tieferem pH-Wert getaucht wurden. Die gleiche Reihe wurde auch beginnend mit pH 3.0 rückwärts, also mit steigendem pH-Wert und fallenden Konzentrationen durchgeführt. Zur experimentellen Durchführung siehe Kapitel 2.2.1.

Die mit 12 h recht kurze Kristallisationszeit wurde gewählt, da das Wachstum beobachtet werden sollte und nicht die ausgebildeten Strukturen nach 24 h. Der pH 7.0 wurde gewählt, da auch die Diffusionsanlagen bei diesem Wert begannen, bei pH 3.0 wurde gestoppt, da sich unterhalb dieses Werts die Morphologien nicht mehr ändern. Vorausgehend muss bemerkt werden, dass alle folgenden Proben auch mittels XRD und IR untersucht wurden und es sich bei allen Beschichtungen um Fluorapatit handelte.

In allen durchgeführten Versuchen dieser Reihe änderte sich der pH-Wert in jeder einzelnen Lösung relativ stark (siehe Tabelle 2.2.3.1), was auf eine starke Kristallisation und viele beschichtete Proben hinweist. Daher ist die Änderung im weiteren Verlauf nicht mehr so stark, da in jeder weiteren Lösung eine Probe weniger beschichtet wurde. Trotzdem ist die Änderung des pH-Werts auch im späteren Verlauf der Reihe mit weniger Proben immer noch merklich größer als bei Einzelversuchen (siehe Tabelle 2.2.2.1.1), was auf eine keimbildende Wirkung der schon vorhandenen Beschichtung schließen lässt.

Ca	3.00	1 2 3	pH <sub>s</sub> 6.91 pH <sub>e</sub> 6.24								
P	1.80	4 5 6									
F	0.60	7 8 9									
Ca	3.75		1 2 3	pH <sub>s</sub> 6.43 pH <sub>e</sub> 4.70							
P	2.25		4 5 6								
F	0.750		7 8								
Ca	4.50			1 2 3	pH <sub>s</sub> 5.94 pH <sub>e</sub> 4.69						
P	2.70			4 5 6							
F	0.90			7							
Ca	5.25				1 2 3	pH <sub>s</sub> 5.43 pH <sub>e</sub> 4.60					
P	3.15				4 5 6						
F	1.05										
Ca	6.00					1 2 3	pH <sub>s</sub> 4.90 pH <sub>e</sub> 4.16				
P	3.60					4 5					
F	1.20										
Ca	6.75						1 2 3	pH <sub>s</sub> 4.42 pH <sub>e</sub> 4.15			
P	4.05						4				
F	1.35										
Ca	7.50							1 2 3	pH <sub>s</sub> 4.01 pH <sub>e</sub> 3.70		
P	4.50										
F	1.50										
Ca	8.25								1 2	pH <sub>s</sub> 3.53 pH <sub>e</sub> 3.41	
P	4.95										
F	1.65										
Ca	9.00									1	pH <sub>s</sub> 3.01 pH <sub>e</sub> 2.92
P	5.40										
F	1.80										
	pH	7.00	6.50	6.00	5.50	5.00	4.50	4.00	3.50	3.00	

**Tabelle 2.2.3.1** Prinzip der Probenanzahlen, pH-Änderungen und Konzentrationsänderungen; nacheinander durchgeführte Versuche, daher mehrfach (bis 9-mal) beschichtete Proben

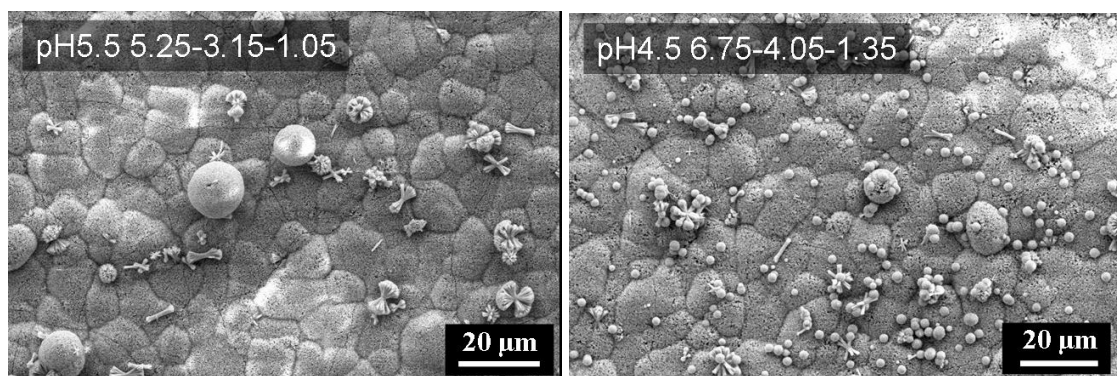


Beim Anfangs-pH-Wert=7.0 entstand zuerst die in vorigem Kapitel beschriebene Schneemorphologie aus spitzen Nadeln, welche die Titanoberfläche komplett bedeckte. Da der Teppich noch nicht sehr dick war, konnte man die körnige Oberflächenstruktur des geätzten Titans noch deutlich erkennen. Vereinzelt traten auch kleine Hantel- und Kugel-Strukturen (ca. 5-7  $\mu\text{m}$ ) auf, allerdings waren sie eher von der in vorigem Kapitel gezeigten Sonnenmorphologie, d. h. sie bestanden aus spitzen Nadeln, die direkt von einem Zentrum ausgingen.

Beim Eintauchen in die weiteren FAP-Tauchlösungen bis pH 5.5 wuchsen Anzahl und Größe der aus Nadeln bestehenden Hanteln (ca. 5-8  $\mu\text{m}$ ) und Kugeln (ca. 10-15  $\mu\text{m}$ ). Die Beschichtung wurde auch augenscheinlich dicker und die Titanoberfläche war nicht mehr so gut zu erkennen (siehe Abb. 2.2.3.1 links). Es traten auch die ersten länglichen Hanteln und „flauschigen“ Kugeln auf, bei denen ein dichter Keim zu erkennen war, der sich an den Enden aufspaltete (typische Struktur für pH 6.0).

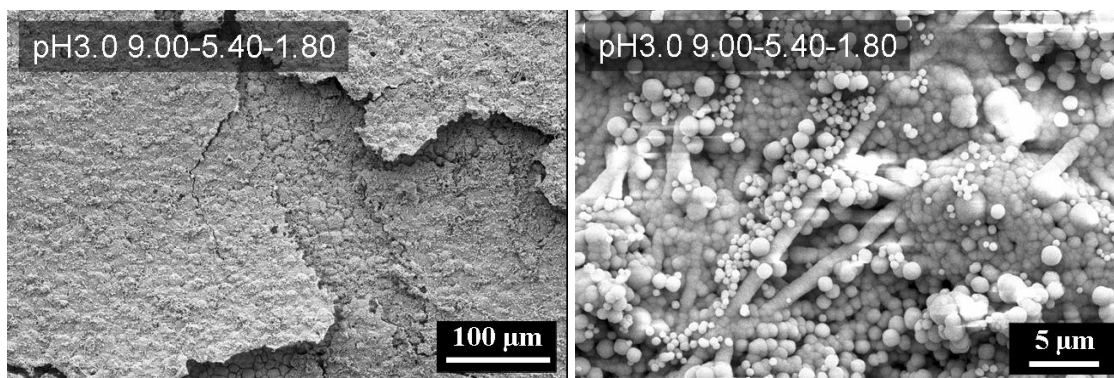
In vorigen Versuchen musste bei pH 5.0 von der linearen Konzentrationssteigerung abgewichen werden, da die Konzentration von  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  6.0-3.6-1.2 zu keiner Kristallisation führte, außer dem so genannten Haar. Bei den hier durchgeführten Versuchen mit nacheinander ausgeführtem mehrmaligem Eintauchen in verschiedene Lösungen waren schon bei dieser geringen Konzentration die ersten dichten Kugeln (ca. 1-2  $\mu\text{m}$ ) zu erkennen (siehe Abb. 2.2.3.1 rechts).

Bei weiterer Erniedrigung des pH-Werts bis 3.5 stieg die Anzahl der dichten Kugeln und die Titanoberflächenstruktur verschwand nahezu. Neben den dichten Kugeln lagen auch noch vereinzelt die zuvor bei höherem pH-Wert entstandenen Morphologien vor.



**Abbildung 2.2.3.1** REM-Aufnahmen: Mehrfach in verschiedene FAP-Lösungen getauchte Ti-Proben (pH 5.5 4 $\times$ ; pH 4.5 6 $\times$ ); auf zuerst entstandenem Schneeteppich treten ab pH 4.5 erste dichte Kugeln auf

Beim niedrigsten pH 3.0 war die Beschichtung schon so dick, dass schon mit dem Auge aufeinander liegende Schichten zu erkennen waren (siehe Abb. 2.2.3.2), was auch eine Folge des wiederholten Eintauchens in die frische Kristallisationslösung war. Auf REM-Aufnahmen waren Risse in der sehr dichten Schicht zu sehen, die aus vielen Kugeln bestand. Teilweise bestanden diese aus länglichen stäbchenförmigen Kristallen, in denen die einzelnen dichten Kugeln noch erkannt werden konnten.



**Abbildung 2.2.3.2** REM-Aufnahmen: Mehrfach (9×) in verschiedene FAP-Lösungen getauchte Ti-Probe; links: teilweise abgeplatzte Schichtstruktur; rechts: längliche, stäbchenförmige Kristalle aus dichten Kugeln

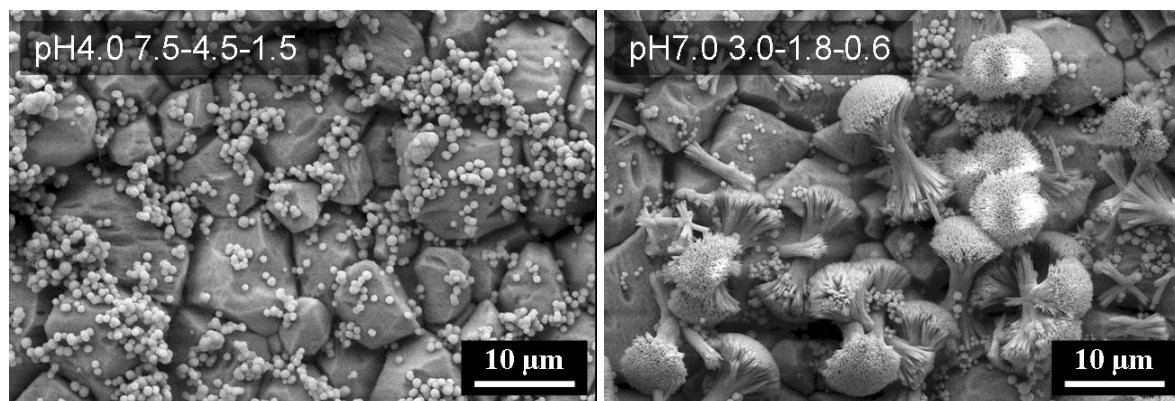
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass zwar die gleichen Morphologien auftreten wie in vorigen Versuchen, dass also der pH-Wert die entscheidende Rolle spielte. Das frühere Auftreten von dichten Kugeln bei relativ niedriger Konzentration war der Hauptunterschied zu den zuvor durchgeführten Versuchen, wo nur einmal getaucht wurde. Zuvor musste die Konzentration erhöht werden, um ähnliche Ergebnisse zu erhalten. Wahrscheinlich ist der Unterschied mit der bereits bedeckten Titanoberfläche zu begründen. Eine unbedeckte geätzte Titanoberfläche übt einen ziehenden Effekt auf die Ionen aus, weshalb es auf ihr zu einer leichten lokalen Erhöhung der Konzentrationen kommt. Fällt dieser Effekt weg, so entstehen die bekannten Morphologien zu einem etwas früheren Zeitpunkt, jedoch bleibt der pH-Wert die entscheidende Größe.

Die in umgekehrter Richtung durchgeführte Reihe (siehe Tabelle 2.2.3.2) mit Start bei pH 3.0 lieferte andere Ergebnisse. In dieser Reihe waren die Änderungen der pH-Werte der einzelnen Lösungen sehr regelmäßig, was auf eine gleichmäßige Kristallisation hinweist. Obwohl immer weniger Proben zu beschichten waren, lag die Änderung zumeist nahe bei 0.3, was auch damit zu begründen ist, dass bei höherem pH-Wert die Änderung allgemein (auch bei Einzelversuchen) höher ist, wodurch sich diese beiden Effekte annähernd aufheben.

<b>Ca</b>	9.00	8.25	7.50	6.75	6.00	5.25	4.50	3.75	3.00
<b>P</b>	5.40	4.95	4.50	4.05	3.60	3.15	2.70	2.25	1.80
<b>F</b>	1.80	1.65	1.50	1.35	1.20	1.05	0.90	0.75	0.60
<b>pH(0)</b>	3.02	3.55	4.00	4.48	4.88	5.43	5.93	6.43	6.88
<b>pH(12)</b>	2.89	3.32	3.66	4.21	4.53	5.31	4.72	6.18	6.58

**Tabelle 2.2.3.2** pH-Änderungen nach 12 h der jeweiligen FAP-Lösungen der umgekehrten Reihe (steigender pH-Wert, fallende Ionenkonzentration); Prinzip der Probenanzahlen wie in Tabelle 2.2.3.1

Bei niedrigen pH-Werten bis 5.0 traten ausschließlich dichte Kugeln (ca. 0.3-0.7  $\mu\text{m}$ ) auf (siehe Abb. 2.2.3.3 links), deren Anzahl stetig stieg. Erst ab pH 5.5 entstanden die ersten sehr seltenen „flauschigen“ Kugeln aus länglichen Keimen, also die ersten nicht runden Strukturen. Ab pH 6.0 begannen die länglichen Strukturen (Hanteln 3-7  $\mu\text{m}$ , Kugeln 15-20  $\mu\text{m}$ ), deren Enden sich aufspalteten, zu dominieren. Bei pH 7.0 traten fast ausschließlich längliche sich aufspreizende Strukturen (Hanteln bis 15  $\mu\text{m}$ ) auf (siehe Abb. 2.2.3.3 rechts), an denen sich das Wachstum von der Hantel bis zur Kugel gut erkennen ließ. Dies liegt wahrscheinlich an der geringeren Änderung des pH-Werts bei der durchgeführten Reihe, wohingegen bei voriger Reihe von pH 7.0-3.0 die Hanteln meist die Tendenz zum Schließen zeigten, da dort die Kristalle schneller wuchsen.



**Abbildung 2.2.3.3** REM-Aufnahmen: Mehrfach in verschiedene FAP-Lösungen getauchte Ti-Proben (pH 4.0 3 $\times$ ; pH 7.0 9 $\times$ ); auf zuerst entstandenem dichten Kugeln treten ab pH 6.0 erste längliche Strukturen (Hanteln) auf

Die zu Beginn entstandenen dichten Kugeln waren nur noch in starker Vergrößerung zu erkennen, sie schienen zu schrumpfen. Dies lässt sich mit der Löslichkeit von FAP begründen, die zwar relativ klein aber doch vorhanden ist. Es findet ein ständiges Lösen und erneutes Auskristallisieren statt, wobei die für niedrige pH-Werte typischen dichten Kugeln

sich langsam auflösen und deren Ionen in den für höhere pH-Werte typischen länglichen Strukturen ausfallen. Dieser Effekt ließ sich bei voriger Reihe nicht sehr gut beobachten, da dort zu Beginn größere Strukturen und ein die Oberfläche bedeckender Teppich entstanden, an denen kleine Größenänderungen nicht leicht zu erkennen waren. Bei den in dieser Reihe entstanden kleinen dichten Kugeln waren Unterschiede von 0.5 µm schon zu sehen. Zusammenfassend lässt sich über die Reihe von pH 3.0-7.0 sagen, dass wie in voriger Reihe keine neue unbekannte Morphologie aufgetreten ist. Der Unterschied ist, dass die bei höheren pH-Werten entstandenen Hanteln sich langsamer schlossen und mehr in die Länge wuchsen.

## 2.2.4 Einfluss der Übersättigung und der Ionenstärke

Um die Abhängigkeit des Kristallwachstums vom pH-Wert zu erklären, mussten Übersättigung und Ionenstärke sowie Phosphatkonzentration bei einem bestimmten pH-Wert berechnet werden.

Weil in das Löslichkeitsprodukt des FAP auch die Phosphatkonzentration eingeht, musste die Protolyse der Phosphorsäure in jedem pH-Bereich berechnet werden. Da die Protolysestufen pH-abhängig sind, ist auch das für die FAP-Morphologie wichtige Phosphat-Fluorid-Verhältnis bei jedem pH-Wert unterschiedlich.

Mit den eingestellten pH-Werten und dem  $pK_s$ -Wert jeder Protolysestufe wurden die Konzentrationen von  $H_3PO_4$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  und  $PO_4^{3-}$  über ein Gleichungssystem berechnet:

$$\begin{aligned} K_{s1} &= \frac{[H_3O^+] \cdot [H_2PO_4^-]}{[H_3PO_4]} & \Rightarrow & pH = pK_{s1} + \lg \frac{[H_2PO_4^-]}{[H_3PO_4]} \\ K_{s2} &= \frac{[H_3O^+] \cdot [HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} & \Rightarrow & pH = pK_{s2} + \lg \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} \\ K_{s3} &= \frac{[H_3O^+] \cdot [PO_4^{3-}]}{[HPO_4^{2-}]} & \Rightarrow & pH = pK_{s3} + \lg \frac{[PO_4^{3-}]}{[HPO_4^{2-}]} \\ [H_3PO_4] + [H_2PO_4^-] + [HPO_4^{2-}] + [PO_4^{3-}] &= \text{Gesamtkonzentration} \end{aligned}$$

Aus diesen Gleichungen konnte ein System aus vier Gleichungen mit vier unbekannten erstellt werden. Die Lösung dieses Systems ergab die Konzentrationen der vier Protolysestufen, die für die Berechnung der Ionenstärke, des Löslichkeitsprodukts und der Übersättigung nötig waren. Die Werte für die zur Beschichtung verwendeten Grenzlösungen aus den beschriebenen Berechnungen sind in Tabelle 2.2.4.1 dargestellt.

<b>Lösungen:</b> $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ $\text{KF}$	<b>Protolyse</b> $\text{H}_3\text{PO}_4$ (mol/L)		<b>Zugabe</b> von ... (mol/L)		<b>FAP-Ionen-</b>		<b>FAP-Löslich-</b> <b>keitsprodukt</b> (mol/L) <sup>9</sup>	<b>Über-</b> <b>sättigung</b>
					<b>Stärke</b> (mol/L)	<b>Produkt</b> (mol/L) <sup>9</sup>		
<b>pH3</b> Ca-P-F in mM <b>9.0-5.4-1.8</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$6.819 \cdot 10^{-4}$ $4.718 \cdot 10^{-3}$ $2.909 \cdot 10^{-7}$ $1.425 \cdot 10^{-16}$	$\text{HNO}_3$	0.0273	0.04801	$3.07 \cdot 10^{-61}$	$1.82 \cdot 10^{-56}$	$1.69 \cdot 10^{-5}$
<b>pH4</b> Ca-P-F in mM <b>7.5-4.5-1.5</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$6.408 \cdot 10^{-5}$ $4.433 \cdot 10^{-3}$ $2.733 \cdot 10^{-6}$ $1.339 \cdot 10^{-14}$	$\text{HNO}_3$	0.02268	0.03986	$8.54 \cdot 10^{-56}$	$9.48 \cdot 10^{-57}$	9.01
<b>pH5</b> Ca-P-F in mM <b>6.0-3.6-1.2</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$5.164 \cdot 10^{-6}$ $3.573 \cdot 10^{-3}$ $2.203 \cdot 10^{-5}$ $1.079 \cdot 10^{-12}$	$\text{HNO}_3$	0.00406	0.02487	$1.17 \cdot 10^{-50}$	$2.33 \cdot 10^{-57}$	$5.02 \cdot 10^6$
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$3.676 \cdot 10^{-7}$ $2.543 \cdot 10^{-3}$ $1.568 \cdot 10^{-4}$ $7.679 \cdot 10^{-11}$	$\text{KOH}$	0.00012	0.0174	$7.52 \cdot 10^{-46}$	$9.86 \cdot 10^{-58}$	$7.63 \cdot 10^{11}$
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>3.0-1.8-0.6</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$1.609 \cdot 10^{-8}$ $1.113 \cdot 10^{-3}$ $6.865 \cdot 10^{-4}$ $3.363 \cdot 10^{-9}$	$\text{KOH}$	0.0018	0.01333	$5.54 \cdot 10^{-42}$	$5.69 \cdot 10^{-58}$	$9.74 \cdot 10^{15}$
<b>pH8</b> Ca-P-F in mM <b>0.75-0.45-0.15</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$9.077 \cdot 10^{-11}$ $6.279 \cdot 10^{-5}$ $3.872 \cdot 10^{-4}$ $1.896 \cdot 10^{-8}$	$\text{KOH}$	0.00044	0.00365	$2.43 \cdot 10^{-43}$	$9.05 \cdot 10^{-59}$	$2.68 \cdot 10^{15}$
<b>pH9.2</b> Ca-P-F in mM <b>0.375-0.225-0.075</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$2.077 \cdot 10^{-13}$ $2.277 \cdot 10^{-6}$ $2.226 \cdot 10^{-4}$ $1.728 \cdot 10^{-7}$	$\text{KOH}$	0.0005	0.00202	$2.87 \cdot 10^{-42}$	$5.39 \cdot 10^{-59}$	$5.32 \cdot 10^{16}$
<b>pH10.5</b> Ca-P-F in mM <b>0.375-0.225-0.075</b>	$\text{H}_3\text{PO}_4$ $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ $\text{HPO}_4^{2-}$ $\text{PO}_4^{3-}$	$5.191 \cdot 10^{-16}$ $1.136 \cdot 10^{-7}$ $2.215 \cdot 10^{-4}$ $3.430 \cdot 10^{-6}$	$\text{KOH}$	0.0016	0.00273	$2.24 \cdot 10^{-38}$	$6.89 \cdot 10^{-59}$	$3.26 \cdot 10^{20}$

**Tabelle 2.2.4.1** Daten zu Grenzlösungen im pH-Bereich 3.0-7.0 und im pH-Bereich 8.0-10.5

Das Ionenprodukt von Fluorapatit wird nach folgender Gleichung berechnet:

$$IP = [\text{Ca}^{2+}]^5 \cdot [\text{PO}_4^{3-}]^3 \cdot [\text{F}^-]^1$$

Die Ionenstärke berechnet sich nach:

$$I_{St} = 0,5 \cdot \sum c_i \cdot z_i^2$$

mit c=molare Konzentration und z=Ladung der jeweiligen Spezies

In die Berechnung der Ionenstärke mussten alle hinzugegebenen ionischen Moleküle miteinbezogen werden, also auch KOH oder  $\text{HNO}_3$  zur Einstellung des pH-Werts oder andere Zusatzstoffe wie z. B. Tenside.

Das Löslichkeitsprodukt folgt nach Hagen<sup>[267]</sup> unter Einbeziehung der Ionenstärke aus:

$$LP = 10^{-58,02+14,51 \cdot \sqrt{I_{St}}}$$

Die Übersättigung ist dann nach Tang et. al.<sup>[268]</sup> definiert als:

$$\ddot{U} = IP / LP$$

Dabei fällt auf, dass Phosphatkonzentration und Übersättigung der Lösung mit steigendem pH-Wert ansteigen, obwohl die zugegebene Menge an Phosphatlösung (und auch der anderen Ionenlösungen) ständig verringert wurde. Die Gründe dafür sind einerseits die sich ändernde Protolyse von Phosphorsäure bei steigendem pH-Wert und andererseits das kleiner werdende Löslichkeitsprodukt von FAP bei basischeren Bedingungen.

Im pH-Bereich von 3.0 bis 7.0 zeigen die Berechnungen, dass die experimentell gefundenen Ionenkonzentrationen der Grenzlösungen einen linearen Anstieg der Übersättigung liefern, der sich bei höheren pH-Werten jedoch bis zu einem Plateau abflacht, sodass dort keine Kristallisation mehr eintritt (siehe Abb. 2.2.4.3). Eine weitere Erhöhung der Ionenkonzentration in diesem Bereich war nicht mehr möglich, da es sich bereits um Grenzlösungen handelte, bei denen weitere Ionenzugabe zu spontaner Kristallisation in der Lösung geführt hätte.

Es wurde festgestellt, dass die FAP-Kristallisation aus Lösungen mit dem stöchiometrischen Verhältnis 5:3:1 um die in Abb. 2.2.4.3 dargestellte Linie herum stattfindet. Deshalb wurden Experimente durchgeführt, in denen versucht wurde, sich nach oben oder unten von dieser Linie zu entfernen. Dies wurde durch die Änderungen von Konzentrationen und pH-Wert und damit der Übersättigung erreicht. Bei zu starker Übersättigung (über der Linie) kam es zu spontaner Kristallisation, die für die hier durchgeführte *dip-coating*-Methode ungünstig war, da sich keine Aussage mehr über die Kristallisationszeit machen ließ.

Aus den dargelegten Gründen wurden die Experimente ausschließlich mit verringerter Übersättigung durchgeführt. Dies war auch aus einem anderen Grund sinnvoll, denn in den vorigen Versuchen war teilweise nicht genau zu erkennen, welche Struktur die Kristallisationskeime der verschiedenen Morphologien besaßen. Bei sehr geringen Ionenkonzentrationen wäre es vielleicht möglich, das Wachstum der Keime anzuhalten, da die entstandenen Keime bereits den Großteil der Ionen aus der Lösung verbraucht hätten.

Es wurde der morphologische Übergangsbereich von pH 5.0-7.0 gewählt, da vermutet wurde, dass sich dort Änderungen am stärksten auswirken würden und außerdem in diesem Bereich die in dieser Arbeit besonders untersuchten Morphologien auftreten. Generell lässt sich sagen, dass bei zu starker Verringerung der Ionenkonzentration die FAP-Kristallisation vollkommen ausbleibt (siehe Abb. 2.2.4.3). Senkt man die Konzentration jedoch nur mäßig, so entstehen in gleicher Zeit weniger Kristalle als bei Normalkonzentration. Auch die Morphologien zeigen bei moderater Verringerung der Konzentration leichte Änderungen.

Lösungen: Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KF	Protolyse H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (mol/L)		Zugabe von ... (mol/L)		FAP-Ionen-		FAP-Löslich- keitsprodukt (mol/L) <sup>9</sup>	Über- sättigung
					Stärke (mol/L)	Produkt (mol/L) <sup>9</sup>		
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>0.9-0.54-0.18</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	7.35E-08 5.09E-04 3.14E-05 1.54E-11	KOH	0	0.00347	3.85E-52	8.60E-59	4.48E+06
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>1.2-0.72-0.24</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	9.80E-08 6.78E-04 4.18E-05 2.05E-11	KOH	0.00003	0.00464	5.13E-51	1.17E-58	4.38E+07
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>1.5-0.9-0.3</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.23E-07 8.48E-04 5.23E-05 2.56E-11	KOH	0.00005	0.00580	3.82E-50	1.53E-58	2.49E+08
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>1.9-1.14-0.38</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.55E-07 1.07E-03 6.62E-05 3.24E-11	KOH	0.00007	0.00735	3.21E-49	2.11E-58	1.52E+09
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>3-1.8-0.6</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	2.45E-07 1.70E-03 1.05E-04 5.12E-11	KOH	0.00013	0.01162	1.96E-47	4.41E-58	4.44E+10
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.68E-07 2.54E-03 1.57E-04 7.68E-11	KOH	0.00023	0.01745	7.52E-46	9.93E-58	7.58E+11
<b>pH5.5</b> Ca-P-F in mM <b>12-7.2-2.4</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.23E-06 7.06E-03 1.38E-04 2.13E-11	HNO <sub>3</sub>	0.00238	0.04966	5.79E-45	2.06E-56	2.81E+11
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.88-0.528- 0.176</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	4.72E-09 3.27E-04 2.01E-04 9.86E-10	KOH	0.0004	0.00385	8.91E-47	9.55E-59	9.34E+11

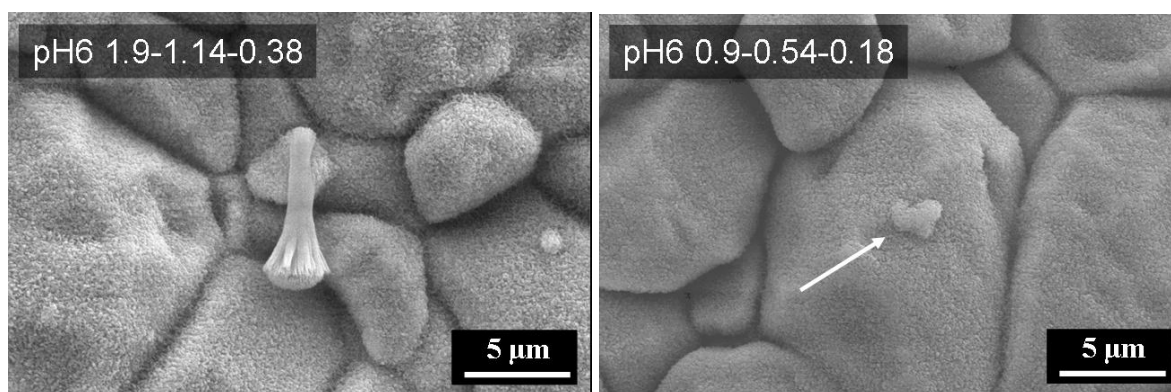
**Tabelle 2.2.4.2** Daten für Lösungen bei pH6 mit variierter Übersättigung und für Lösungen mit konstanter Übersättigung bei pH 7.0 und pH 5.5

Bei pH 5.0 entstehen keinerlei dichte Kugeln mehr, denn wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben ist dafür eine erhöhte Ionenkonzentration nötig. Bei Verringerung entsteht immer weniger FAP, bis die Kristallisation schließlich ausbleibt.

Die bei pH 6.0 (siehe Tabelle 2.2.4.2) entstehende Hantelmorphologie zeigte bei Standard-Ionenkonzentration drei Wachstumsschritte: Nadeln, Hanteln und Kugeln, die nach 12 h alle nebeneinander vorlagen (siehe Abb. 2.2.7.1.1). Bei verringerter Konzentration (ab 1.9-1.14-0.38) waren nur noch Nadeln und einige Hanteln zu sehen (siehe Abb. 2.2.4.1), deren Enden jedoch schmal waren und scheinbar keine Tendenz hatten, sich zur Kugel zu schließen.

Teilweise war nur eine Seite des Nadelkeims zur Hantel gewachsen, teilweise waren die Hantelenden unregelmäßig oder defekt. Dies kann zwei Gründe haben: Entweder war die

Kristallisationszeit bei der geringen Konzentration nicht ausreichend und es wäre nötig gewesen die Proben länger in der Lösung zu lassen, oder die Ionen der Lösung wurden von den entstandenen Kristallen aufgebraucht, sodass ein weiteres Wachstum unmöglich war. Vergleicht man die bei geringer Konzentration entstandenen Hanteln mit Hanteln bei normaler Konzentration, aber nur wenigen Stunden Kristallisationszeit (siehe Abb. 2.2.7.1.1), so lässt sich sagen, dass dort auch nach kurzer Zeit die wenigen entstandenen Hanteln eher zum Schließen neigen, als die bei geringer Konzentration nach längerer Zeit. Dazu schließen sich die Hanteln bei normaler Konzentration von Beginn an etwas mehr von der Mitte aus und werden so zu Kugeln, die Hanteln bei geringer Konzentration zeigen eher Verdickungen an den Spitzen, die nicht den Anschein erweckten, sich jemals zu Kugeln zu schließen. Wird die Konzentration noch weiter gesenkt (ab 1.2-0.72-0.24), so entstehen nur noch sehr vereinzelt kleine, kugelförmige Strukturen, bei denen es sich möglicherweise um die Keime der Nadeln handelt, also den frühesten Vorläufern der Hanteln.

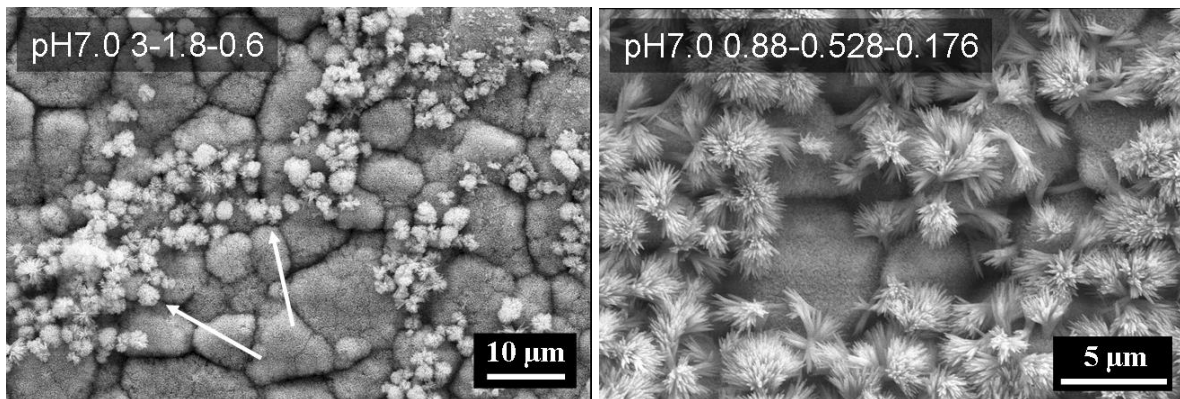


**Abbildung 2.2.4.1** REM-Aufnahmen: FAP auf Ti mit kleiner Übersättigung bei pH6.0; Kristallisationszeit 24 h; nur wenige Kristalle sichtbar

Bei pH 7.0 (siehe Tabelle 2.2.4.2) führt eine Verringerung der Ionenkonzentration wie in allen Fällen zu weniger Kristallwachstum (siehe Abb. 2.2.4.2). Es entsteht kein geschlossener Schneeteppich mehr, sondern einzelne sonnenförmige Kristalle, die an Gebilde auf Polymeren erinnern (siehe Abb. 2.2.2.2.2 rechts) bzw. an die Kristallisationskeime des Schneeteppichs nach wenigen Stunden. Dies wirft erneut die Frage auf, ob dies am Verbrauch der Ionen liegt, oder ob die Kristallisation nur verzögert wurde. Auch hier weisen Vergleiche mit Versuchen bei Standardkonzentration aber in kürzerer Zeit auf den Verbrauch hin. Die bei geringer Konzentration entstehenden Kristalle ähneln Büscheln aus spitzen Nadeln, ähnlich denen bei normaler Konzentration entstanden, jedoch sind dort die einzelnen Nadeln dichter gepackt.

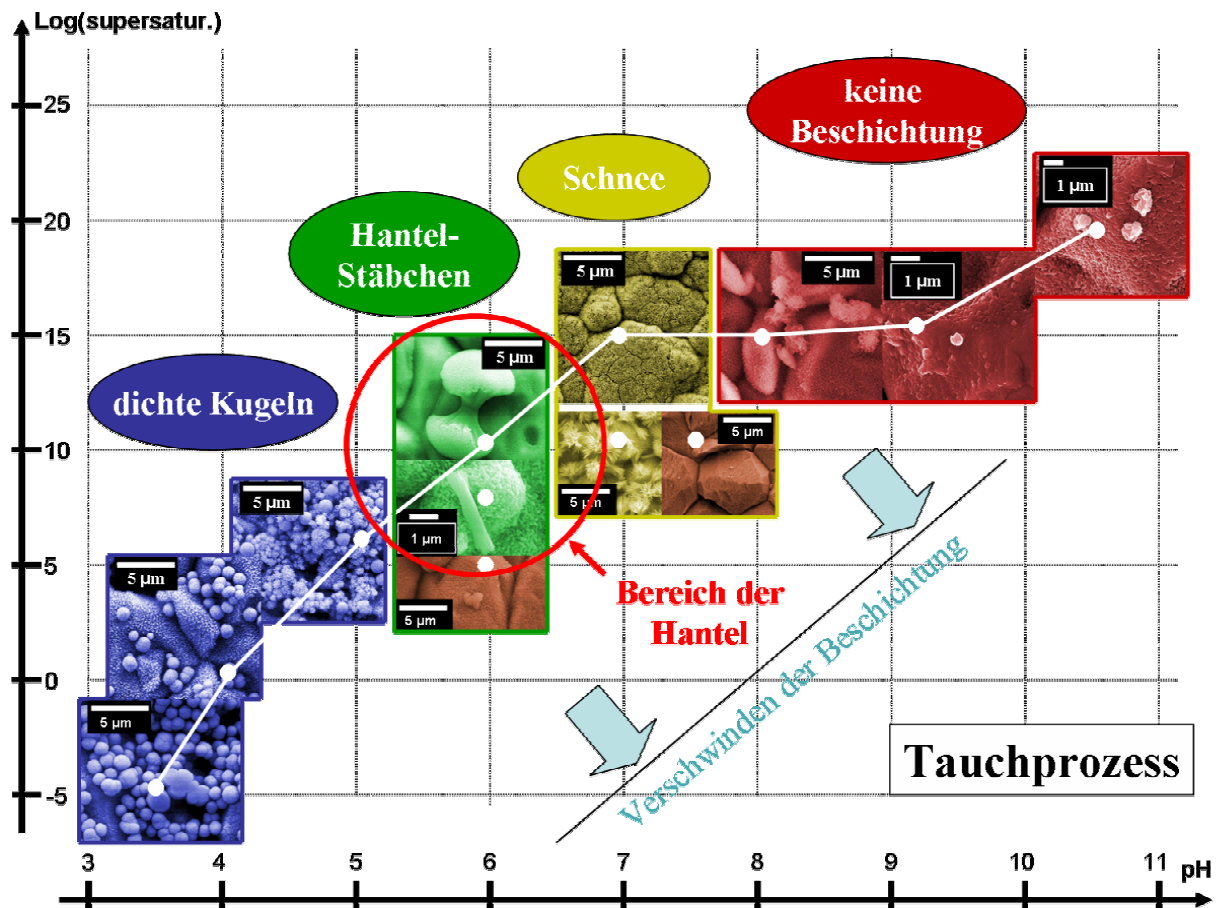


Außerdem sieht man auf dieser dichteren Schicht eine zweite Generation von sonnenförmigen Kristallen, die bei geringerer Ionenkonzentration entstanden sein müssen, da der Teppich zuvor schon Ionen verbraucht hat. Die bei geringer Konzentration entstandenen Büschel sehen in Größe und Form diesen Sonnen ähnlicher, was gegen eine Verzögerung spricht, sondern für eine konzentrationsabhängige leichte Morphologieänderung. Wie bei pH 6.0 ist auch dies nicht als abschließender Beweis zu werten, die Bilder deuten jedoch auch hier auf einen Stopp des Kristallwachstums aufgrund von Verbrauch von Ionen hin.



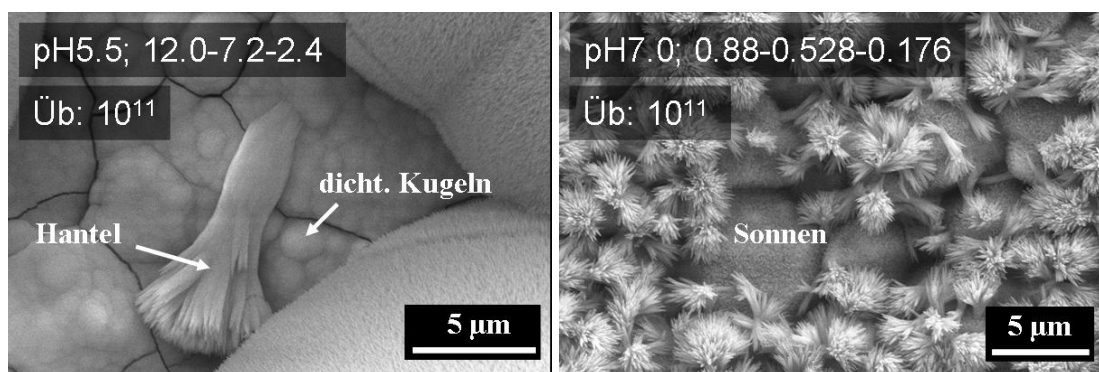
**Abbildung 2.2.4.2** REM-Aufnahmen: FAP auf Ti; geringe Übersättigung bei pH 7.0. Kristallisationszeit 24 h; sonnenförmige Kristalle

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass im Konzentrationsbereich unter den ermittelten Grenzlösungen weniger Kristalle entstehen, deren Morphologien sich teilweise etwas ändern und das ein zu weites Absenken der Ionenkonzentration zum vollkommenen Ausbleiben der FAP-Kristallisation führt.



**Abbildung 2.2.4.3** FAP-Morphologien bei stöchiometrischem  $[\text{Ca}^{2+}]:[\text{Phosphat}]:[\text{F}^-]$ -Verhältnis in Abhängigkeit von Übersättigung und pH-Wert

Dazu lässt sich sagen, dass bei der Entstehung der verschiedenen Morphologien der pH-Wert die entscheidende Rolle spielt und die Übersättigung nur geringen Einfluss besitzt. Dies wurde durch Versuche bestätigt, in denen die Übersättigung konstant gehalten wurde (bei  $10^{11}$ , dem Wert für Hanteln bei pH 6.0) und mit einer Änderung des pH-Werts völlig verschiedene Morphologien erhalten wurden (siehe Abb. 2.2.4.4).

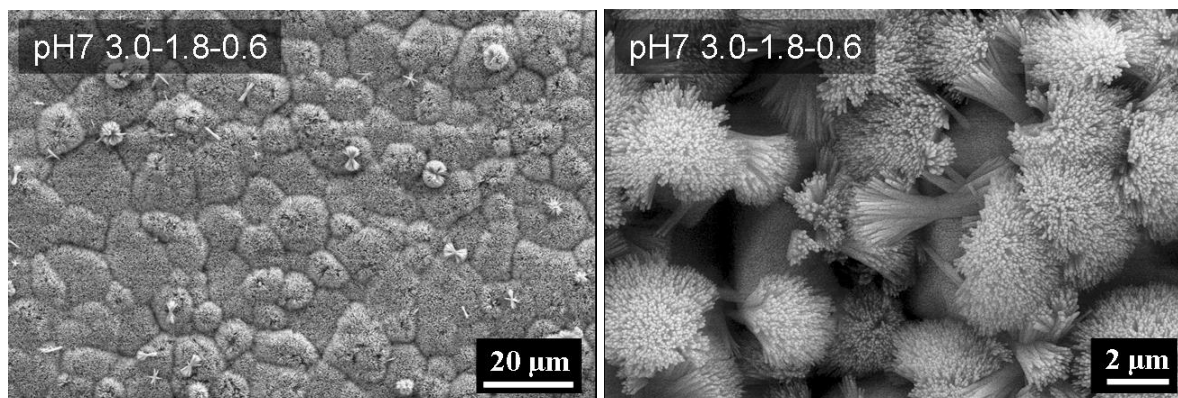


**Abbildung 2.2.4.4** REM-Aufnahmen: Versuche mit konstanter Übersättigung bei unterschiedlichen Ionenkonzentrationen

Anhand dieser Versuche lässt sich auch die Tendenz des FAP nachvollziehen, mit steigendem pH-Wert immer weniger kompakte Morphologien zu bevorzugen. Bei pH 5.5 entstehen bei  $\bar{U}=10^{11}$  miteinander verwachsene dichte Kugeln und darauf Hanteln mit dichtem Mittelstück und sich verzweigenden Enden die sich zu „flauschigen“ Kugeln öffnen. Bei pH 6.0 und gleich bleibender Übersättigung treten ausschließlich diese Hanteln und Kugeln auf, welche bei pH 7.0 von noch offeneren sonnenförmigen Strukturen abgelöst werden. Weitere pH-Erhöhung bei gleicher Übersättigung führt zum Ausbleiben der Kristallisation.

### 2.2.5 Morphologien bei pH 7

Während bei pH 7.0 auf Titan die Kristallkeime von der Titanoberfläche angezogen wurden und dort den Schneeteppich bildeten (siehe Abb. 2.2.5.1), der aus vielen einzelnen nadelförmigen Kristallen bestand, entstanden auf dem Polymer sonnenförmige Kristalle (siehe Abb. 2.2.2.2.2 rechts). Es wurde jedoch festgestellt, dass auf dem Teppich auf dem Titan ebenfalls Sonnen entstanden. Dies ist dadurch zu erklären, dass ohne die chemisch aktivierte Titanoberfläche die Kristallkeime in der Lösung entstanden und dort in alle Richtungen sternförmig wuchsen. Auf Titan konnte in Aufnahmen nach nur 6 h beobachtet werden, dass das Wachstum dort an einzelnen Stellen begann und sich blumenartige Strukturen aus nadelförmigen Kristallen bildeten. Diese Blumen, von denen einige eine angedeutete rundliche Hantelstruktur besaßen, wuchsen zu Teppichen zusammen, bis sie die Oberfläche nach spätestens 12 h komplett bedeckten. Dann wurden weitere Kristallkeime nicht mehr von der Oberfläche angezogen, so dass dann ebenfalls sonnenförmige Kristalle entstehen konnten, die dann auf dem Teppich lagen.



**Abbildung 2.2.5.1** REM-Aufnahmen: Schneemorphologie bei pH 7; Kristallisationszeit 24 h

Außerdem wurden vereinzelte Hanteln, die allerdings nicht genau wie bei pH 6 wuchsen, auf dem Teppich gefunden. Bei pH 6.0 wachsen eher die Enden der Nadeln auseinander, sodass ein länglicher Mittelteil entsteht (siehe Abb. 2.2.7.1.1). Die resultierenden „flauschigen Kugeln“ sind regelmäßig und dichter, d. h. die Nadeln sind enger zusammen. Die Kristalle bei pH 7.0 wachsen direkt vom Zentrum her auseinander, sodass die resultierende Struktur eher sonnenförmig ist, nur im größeren Maßstab. Dass überhaupt Strukturen auftreten die hantelähnlich sind, ist mit einem Absinken des pH-Werts im Verlauf der Beschichtung zu erklären. Da dieses Absinken jedoch nur ein geringes Ausmaß (ca. 0.2) annimmt, lässt sich sagen, dass die Hantelstruktur nicht nur bei pH 6.0, sondern in einem weiteren pH-Bereich auftritt (siehe Abb. 2.2.4.3).

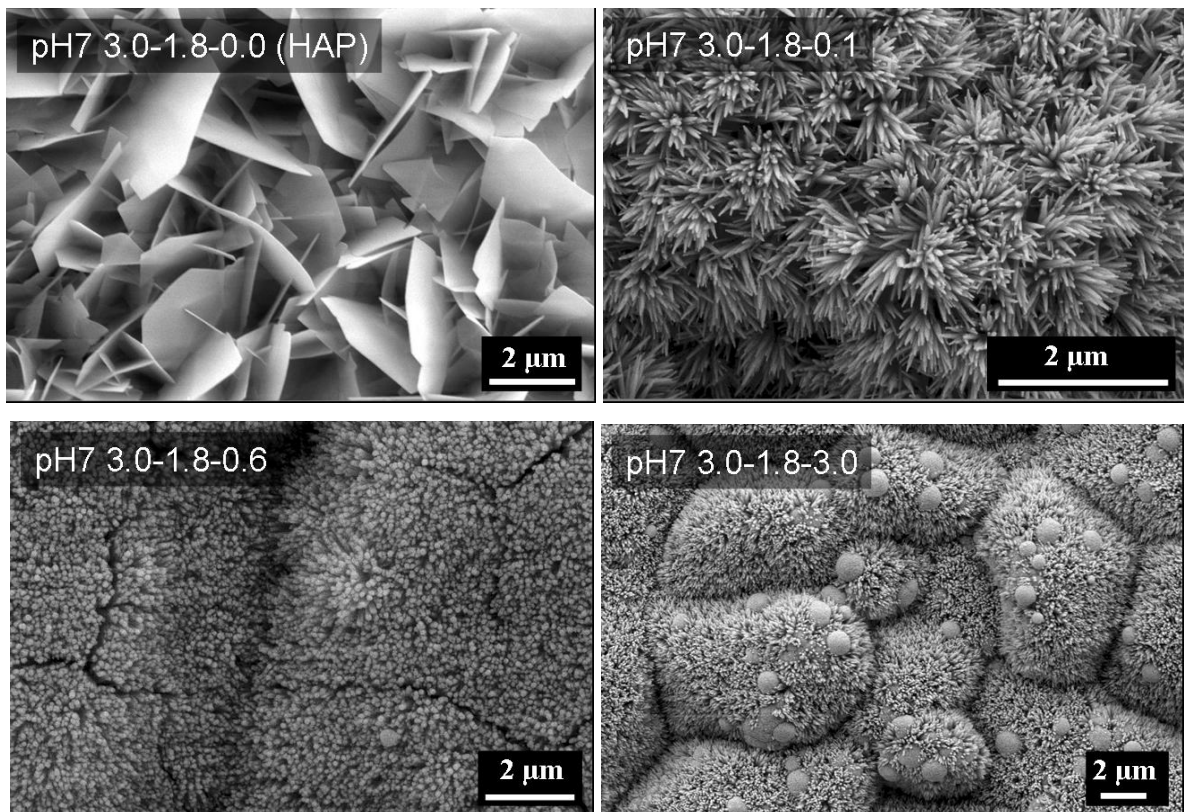
Außerdem lässt sich sagen, dass der Prozess der Kristallisation nach 12 h noch nicht abgeschlossen ist. Betrachtet man nach dieser Zeit eine Probe, so ist die Titanoberfläche zwar komplett bedeckt, ihre felsartige Struktur ist jedoch noch deutlich zu erkennen. Nach 24 h verschwindet diese immer mehr, bis nach 48 h nur noch Hügel im FAP-Teppich zu erkennen sind. Die Nadeln, aus denen dieser Teppich besteht, werden mit der Zeit immer länger und spitzer; es werden auch insgesamt mehr, sodass der Teppich dichter wirkt und keinen Blick mehr auf die Oberfläche zulässt.

Es wurde auch untersucht, inwieweit die Fluoridkonzentration (siehe Tabelle 2.2.5.1) das Kristallwachstum bei pH 7.0 beeinflusst (siehe Abb. 2.2.5.3).

<b>Lösungen:</b> Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KF	<b>Protolyse</b> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (mol/L)		<b>Zugabe</b> von ... (mol/L)		<b>FAP-Ionen-</b>		<b>FAP-Löslich-</b> <b>keitsprodukt</b> (mol/L) <sup>9</sup>	<b>Über-</b> <b>sättigung</b>
					<b>Stärke</b> (mol/L)	<b>Produkt</b> (mol/L) <sup>9</sup>		
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>3.0-1.8-0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.61E-08 1.11E-03 6.87E-04 3.36E-09	KOH	0.0013	0.01203	9.24E-39	4.69E-58	1.97E+19
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>3-1.8-0.1</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.61E-08 1.11E-03 6.87E-04 3.36E-09	KOH	0.0013	0.01258	9.24E-43	5.10E-58	1.81E+15
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>3.0-1.8-0.6</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.61E-08 1.11E-03 6.87E-04 3.36E-09	KOH	0.0018	0.01333	5.54·10 <sup>-42</sup>	5.69·10 <sup>-58</sup>	9.74·10 <sup>15</sup>
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>3.0-1.8-3.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.61E-08 1.11E-03 6.87E-04 3.36E-09	KOH	0.0013	0.01548	2.77E-41	7.68E-58	3.61E+16

**Tabelle 2.2.5.1** Daten zu FAP-Lösungen bei pH 7 zur Untersuchung des Einflusses der Fluorid-Konzentration

Die experimentell bestimmte Grenzkonzentration für diesen pH-Bereich ist 3.0-1.8-0.6. Wird das Fluorid komplett weggelassen, so entsteht die bekannte plättchenförmige Hydroxylapatitstruktur. Bei nur geringer Zugabe von Fluorid (3.0-1.8-0.1) entsteht sofort die aus Nadeln bestehende Teppichstruktur. Vergleicht man diese Struktur jedoch mit den Teppichen, die bei normaler und erhöhter Fluoridzugabe (3.0-1.8-3.0) entstehen, so wird deutlich, dass bei geringer Fluoridkonzentration die Nadeln vergleichsweise dünn und spitz sind, als bei normaler Grenzkonzentration. Der Teppich ist dort dichter, die Nadeln dicker und kürzer. Bei erhöhter Zugabe erscheinen in der Teppichschicht auch noch dichte Kugeln.



**Abbildung 2.2.5.3** REM-Aufnahmen: FAP mit unterschiedlichen Fluoridkonzentrationen (ohne Fluorid entstand HAP); Kristallisationszeit 24 h

Es lässt sich also sagen, dass bei pH 7 die Gegenwart von Fluorid die plättchenförmige in eine nadelförmige Morphologie umwandelt, bis durch eine zu hohe Fluoridkonzentration zusätzlich dichte Morphologien entstehen.

## 2.2.6 Erhöhung der Anionenkonzentration (Vergleich mit der Diffusionsmethode)

In Arbeiten der vergangenen Jahre zur Untersuchung der Kristallisation von FAP wurden Diffusionsanlagen eingesetzt, die sich im Aufbau ähnlich waren. Der Hauptunterschied war der Einsatz von verschiedenen Membranen mit organischer Matrix (poröses Polyglycolid - AK Epple<sup>[266]</sup>, Gelatine - AK Kniep<sup>[262]</sup>).

Die eingesetzten Lösungen besaßen zwar das stöchiometrische Verhältnis  $\text{Ca:PO}_4\text{:F} = 5:3:1$ , jedoch war wegen der unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeiten der Anionen und Kationen nicht sicher, dass dieses Verhältnis innerhalb der Membran konstant blieb. Tatsächlich fand der Großteil der Kristallisation auf der Phosphatseite statt und es wurden abhängig vom Abstand zu dieser Seite unterschiedliche Morphologien gefunden<sup>[266]</sup>.

Der Grund dafür könnte in der schnelleren Diffusionsgeschwindigkeit der Calciumionen liegen, die innerhalb der Membran zu einem Konzentrationsprofil für Calcium führt, während die Anionen sich aufgrund ihrer Größe langsamer bewegen und eine Front bilden. Auf diese noch nahe an der Phosphatseite befindliche Front treffen die ersten Calciumionen, wodurch sich ein lokaler Phosphatüberschuss bildet. Dort entstehen verschiedene FAP-Morphologien, es lässt sich allerdings bei dieser Methode nicht nachweisen, wann und aus welchem stöchiometrischen Kation/Anion-Verhältnis diese entstanden sind.

Um genauere Informationen über die bei verschiedenen stöchiometrischen Verhältnissen entstehenden Morphologien zu erhalten, wurde versucht, diese Kristallisationsprozesse mit Hilfe des *dip-coating*-Verfahrens nachzustellen. Der Vorteil dabei war, dass die genauen Konzentrationen eingestellt werden konnten und es dann möglich war, die verschiedenen Morphologien mit denen aus der organischen Matrix zu vergleichen.

Bei einem Teil der dazu durchgeführten Experimenten wurde die Konzentration der beiden Anionen erhöht mit dem konstanten Verhältnis  $\text{PO}_4\text{:F} = 3:1$ . Bei einem anderen Teil wurde nur die Phosphatkonzentration erhöht mit konstanter Fluoridkonzentration (siehe Tabelle 2.2.6.1, 2.2.6.2). Für alle Versuche wurde die maximal mögliche Calciumkonzentration ausgewählt, bei einer Erhöhung wäre es zu spontanem Ausfall gekommen (experimentell überprüft).

Es wurde der pH-Wert von 7.0 gewählt, um im Bereich der zuvor beschriebenen Diffusionsversuche (pH 7.4) zu liegen. Dazu wurde noch der pH 6.0 ausprobiert, da dieser in der vorliegenden Arbeit ausgiebig untersucht wurde und daher schon einige Erkenntnisse zu Vergleich vorlagen. Bei diesem pH-Wert konnte auch die Calciumkonzentration noch weiter erhöht werden, was nützlich war, da die genauen Konzentrationen während der Diffusion

unbekannt waren und eine weitere Vergleichsmöglichkeit mit höherer Kationenkonzentration unter Umständen neue Erkenntnisse liefern konnte.

Die angesetzten Lösungen mit ihren pH-Werten vor und nach der Beschichtung und ihren Protolysestufen, Ionenstärken, Ionen- und Löslichkeitsprodukten und Übersättigungen sind in Tabellen 2.2.6.1 und 2.2.6.2 dargestellt:

Ca-P-F	0.5-5-1	0.5-10-1	0.5-15-1	0.5-6-2	0.5-12-4	0.5-21-7
pH(0)	6.91	6.98	6.97	6.93	6.87	6.90
pH(144)	6.67	6.81	6.84	6.74	6.73	6.71
pH(240)	6.71	6.86	6.91	6.80	6.83	6.79

**Tabelle 2.2.6.1** pH-Wert Änderungen nach verschiedenen Kristallisationszeiten (Zeit in h) bei variierenden Anionenkonzentrationen der FAP-Lösungen

Lösungen: Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KF	Protolyse H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (mol/L)		Zugabe von ... (mol/L)		FAP-Ionen-		FAP-Löslich- keitsprodukt (mol/L) <sup>9</sup>	Über- sättigung
					Stärke (mol/L)	Produkt (mol/L) <sup>9</sup>		
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-5.0-1.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	4.47E-08 3.09E-03 1.91E-03 9.34E-09	KOH	0.003	0.01186	2.55E-44	4.57E-58	5.57E+13
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-10.0-1.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	8.94E-08 6.19E-03 3.81E-03 1.87E-08	KOH	0.006	0.02122	2.04E-43	1.56E-57	1.30E+14
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-15.0-1.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.34E-07 9.28E-03 5.72E-03 2.80E-08	KOH	0.010	0.03108	6.86E-43	4.37E-57	1.58E+14
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-20.0-1.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.79E-07 1.24E-02 7.63E-03 3.74E-08	KOH	0.014	0.04094	1.63E-42	1.04E-56	1.57E+14
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-6.0-2.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	5.36E-08 3.71E-03 2.29E-03 1.12E-08	KOH	0.0042	0.01503	8.80E-44	7.23E-58	1.22E+14
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-12.0-4.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.07E-07 7.42E-03 4.58E-03 2.24E-08	KOH	0.009	0.02887	1.41E-42	3.51E-57	4.01E+14
<b>pH7</b> Ca-P-F in mM <b>0.5-21.0-7.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.88E-07 1.30E-02 8.01E-03 3.92E-08	KOH	0.0165	0.04976	1.32E-41	2.07E-56	6.37E+14
<b>pH6</b> Ca-PO <sub>4</sub> -F in mM <b>1.0-21.0-7.0</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	2.86E-06 1.98E-02 1.22E-03 5.97E-10	KOH	0.003	0.03433	1.49E-45	5.87E-57	2.54E+11

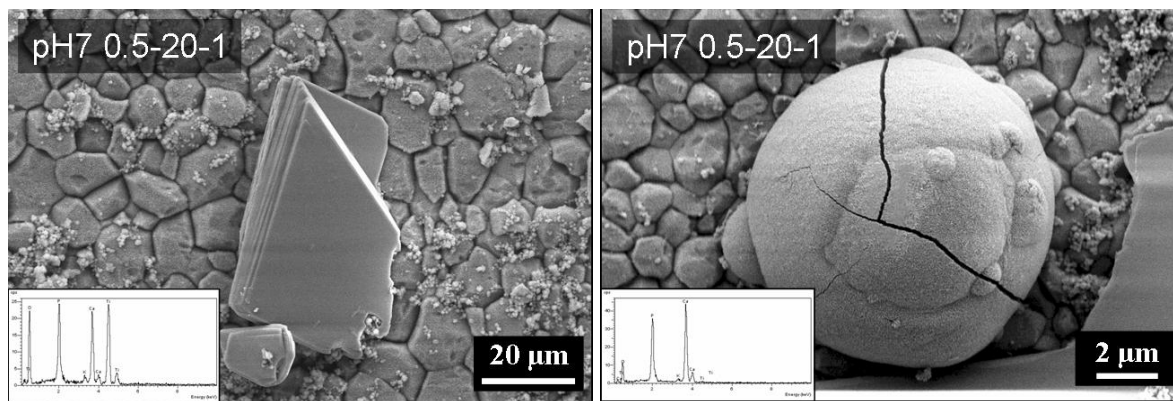
**Tabelle 2.2.6.2** Daten zu FAP-Lösungen mit erhöhten Anionenkonzentration bei pH 7.0



Die Änderungen der vor dem Eintauchen eingestellten pH-Werte wurden zwischen den verschiedenen Ansätzen verglichen. Dabei zeigte sich, dass sich der pH-Wert bei kleinerer Phosphatkonzentration stärker änderte als bei höherer (siehe Tabelle 2.2.6.1). Dies liegt vermutlich an der Änderung des Phosphat/Fluorid-Verhältnisses, da bei kleiner Phosphatkonzentration mehr Fluorid zum Aufbau von Kristallen zur Verfügung steht als bei einer sehr hohen Phosphatkonzentration. Der verhältnismäßige Verbrauch von Phosphat ist bei einem 5:1  $\text{PO}_4\text{:F}$  Gemisch einfach größer als bei 20:1. Auch die Kristallisationszeit wurde variiert, um Informationen über die verschiedenen Wachstumsstadien bei geänderten Anionenkonzentrationen zu gewinnen.

Mit den so erhaltenen Beschichtungen wurden verschiedene Analysen durchgeführt, darunter Lichtmikroskopie, REM, XRD und EDX. IR-Untersuchungen waren nicht möglich, da nicht genug FAP auf der Titanoberfläche vorhanden war.

Mit der Konzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  0.5-20-1 mM bei pH 7.0 nach 6 d wurde eine glitzernde, das Licht in verschiedene Richtungen reflektierende FAP-Beschichtung erhalten. Dieser Effekt wurde von relativ großen (mit den Augen zu erkennenden) plättchenförmigen Kristallen verursacht (siehe Abb. 2.2.6.1), der Hauptphase neben einigen großen (60  $\mu\text{m}$ ) „flauschigen“ FAP-Kugeln und kleinen sonnenförmigen FAP-Kristallen.



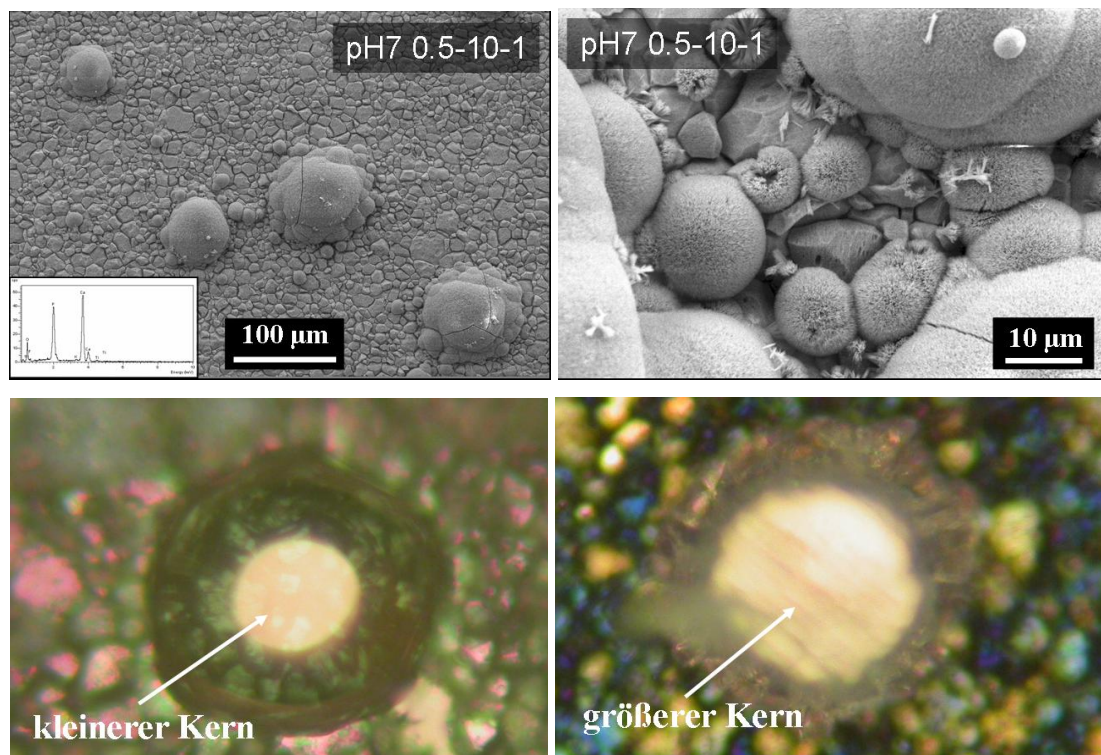
**Abbildung 2.2.6.1** REM-Aufnahmen: Überwiegend Brushit-Plättchen neben wenigen „flauschigen“ FAP-Kugeln; FAP-Lösung 0.5-20-1; pH 7; Kristallisationszeit 6 d

Lichtmikroskopische Untersuchungen zeigten, dass die Kugeln einen Kern besaßen und die Plättchen teilweise transparent waren, sodass die körnige Struktur der Titanoberfläche durch sie sichtbar war. XRD-Analysen der Beschichtung wiesen nur Brushit ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) nach, wobei es sich höchstwahrscheinlich um die reflektierenden Plättchen handelte. Es wurde kein FAP gefunden, da die reflektierenden Plättchen überwogen.



EDX-Analysen dieser Plättchen (siehe Abb. 2.2.6.1) zeigten einen großen Sauerstoffanteil, der ebenfalls den Verhältnissen in Brushit entsprach. Bei den Plättchen war ein schichtartiger Aufbau zu erkennen, der möglicherweise ein Hinweis zum Wachstum anderer Calciumphosphate sein kann. EDX-Analysen der Kugeln wiesen Ähnlichkeiten zu früher durchgeführten Messungen an FAP auf, sodass davon ausgegangen werden kann, dass es sich bei diesen „flauschigen“ Kugeln tatsächlich um FAP handelte. Bei einer Verkleinerung der Phosphatkonzentration traten die Plättchen nie mehr auf, stattdessen wurden Kugeln in verschiedenen Größen erhalten, abhängig von Konzentration und Zeit.

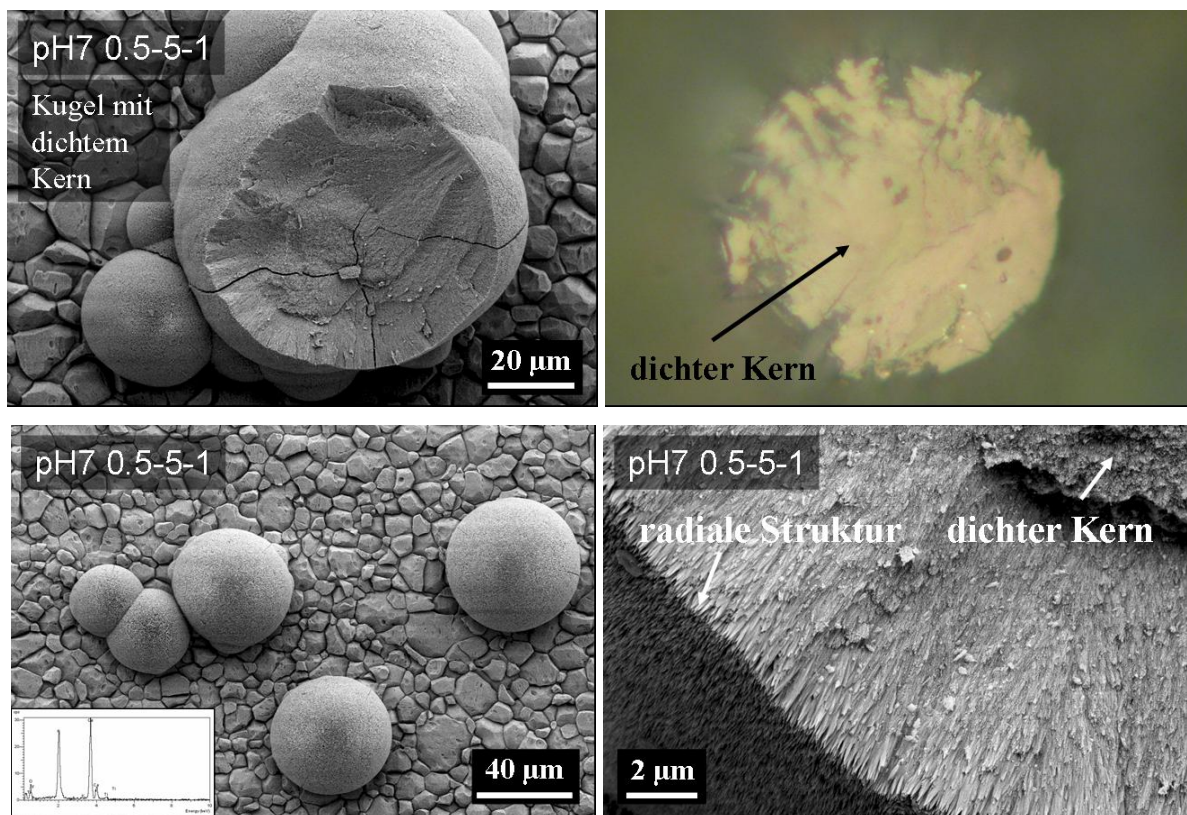
Bei der Konzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  0.5-15-1 mM bei pH 7.0 nach 6 d traten ausschließlich „flauschige“ Kugeln auf, die allerdings mit 30  $\mu\text{m}$  nur halb so groß waren wie diejenigen bei höherer Phosphatkonzentration. Außerdem besaßen diese Kugeln keine Kerne, wie lichtmikroskopische Untersuchungen zeigten.



**Abbildung 2.2.6.2** Bilder von „flauschigen“ FAP-Kugeln; oben: REM-Aufnahmen; unten: lichtmikroskopische Aufnahmen von verschiedenen großen Kernen; FAP-Lösung 0.5-10-1; pH 7.0; Kristallisationszeit 6 d

Bei der Konzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  0.5-10-1 mM bei pH 7.0 nach 6 d haben die Kugeln einen Durchmesser von 50 bis zu 80  $\mu\text{m}$  und sind zumeist von kleineren Kugeln (ca. 10  $\mu\text{m}$ ) umgeben und teilweise mit diesen verwachsen (siehe Abb. 2.2.6.2 oben). Dazu kamen noch

einige nadelförmige Kristalle, die vereinzelt auf den großen Kugeln und gruppenweise auf der Titanoberfläche gefunden wurden. Es kann nicht gesagt werden, ob die Nadeln Keime der Kugeln sind; die einzige offensichtliche Gemeinsamkeit beider Morphologien ist die Spitze am Ende der Nadeln und die spitzförmige Radialstruktur der Kugeln, weshalb diese „flauschig“ genannt werden. Wären die Nadeln nur Keime der Kugeln die später entstanden sind, müssten auch Zwischengenerationen, z. B. Hanteln, zu sehen sein. Lichtmikroskopische Untersuchungen lieferten kein einheitliches Bild der Kugeln, einige besitzen einen so großen Kern, dass sie fast komplett durch ihn ausgefüllt sind, andere hingegen einen relativ kleinen Kern (siehe Abb. 2.2.6.2 unten).



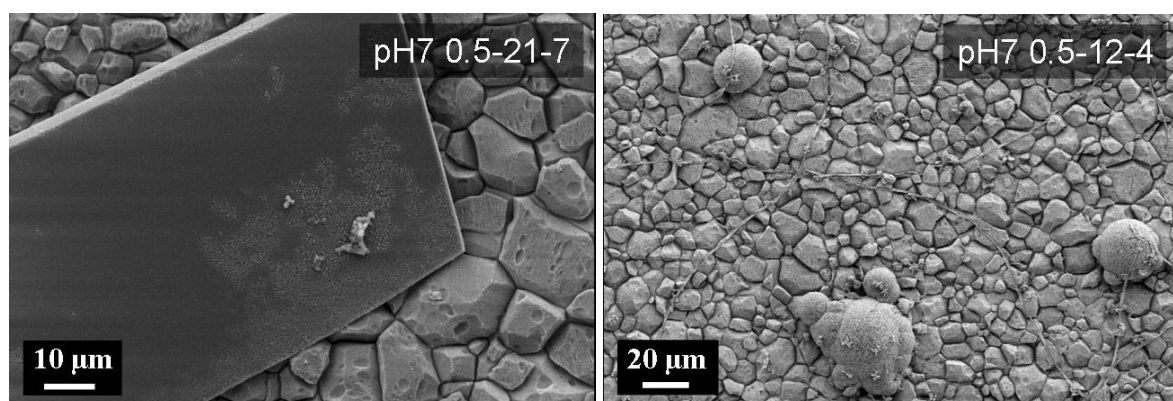
**Abbildung 2.2.6.3** REM-Aufnahmen von „flauschigen“ FAP-Kugeln, radiale Struktur ist zu erkennen; oben rechts: lichtmikroskopische Aufnahme genau des Kernes der Kugel von oben links; FAP-Lösung 0.5-5-1; pH 7; Kristallisationszeit 6 d

Bei der Konzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  0.5-5-1 mM bei pH 7.0 konnte die aus Nadeln bestehende radiale Struktur der großen Kugeln (maximaler Durchmesser 90 µm) besonders gut beobachtet werden (siehe Abb. 2.2.6.3). Auch hier waren Kugeln unterschiedlicher Größe (40-80 µm) zu sehen, die im Lichtmikroskop auch verschieden große Kerne offenbarten. Beim Vergleich von Bildern nach 1 und 6 Tagen zeigte sich, dass zuerst kleinere Kugeln ohne

Kern entstehen, die wahrscheinlich bis zu einem bestimmten Grad nach Außen wachsen und sich darüber hinaus nur noch innen verdichten, also einen Kern entwickeln. Diese Kerne sind auch unterschiedlich groß bei vergleichbaren Kugeln, vermutlich weil bei einigen Kugeln das Wachstum erst später einsetzte. Obwohl die Beschichtung allgemein bei diesem Ansatz vergleichbar zu den vorherigen war, führen die aussagekräftigen REM- und Lichtbilder zur Annahme, dass dieser den größten Beitrag zum Verständnis des Kugelwachstums lieferte.

Auf Abb. 2.2.6.3 ist die besonders interessante von oben aufgebrochene große Kugel (Durchmesser ca. 80  $\mu\text{m}$ ) zu sehen, deren Radialstruktur bis nahe an ihr Zentrum gut zu erkennen ist. Das Lichtbild der gleichen Kugel zeigt, dass sie einen sehr großen dichten Kern hat, sie also nach der vorgestellten Theorie voll ausgewachsen ist. Die EDX-Untersuchungen der Außenseite und des Kerns zeigten gleiche Ergebnisse (siehe Abb. 2.2.6.3), was bedeutet, dass die Kugel nur aus einem Material, wie auch zuvor FAP, aufgebaut ist. XRD-Untersuchungen lieferten aufgrund einer nicht ausreichenden Menge FAP auf der Oberfläche keine Ergebnisse.

Die außerdem durchgeführten Versuche mit konstantem Anionenverhältnis von  $3:1=[\text{Phosphat}]:[\text{F}^-]$  lieferten ähnliche Morphologien (siehe Abb. 2.2.6.4) wie bei den zuvor dargestellten erhöhten Phosphatkonzentrationen ohne Erhöhung der Fluoridkonzentration. Die einzigen Unterschiede bestanden bei Größe und Häufigkeit der Kristalle, an den Morphologien änderte sich jedoch nichts. Bei hoher Konzentration wurden erneut hauptsächlich reflektierende Brushit-Plättchen gefunden, mit sinkender Konzentration traten „flauschige“ Kugeln mit Kern in den Vordergrund und verdrängten das Brushit.



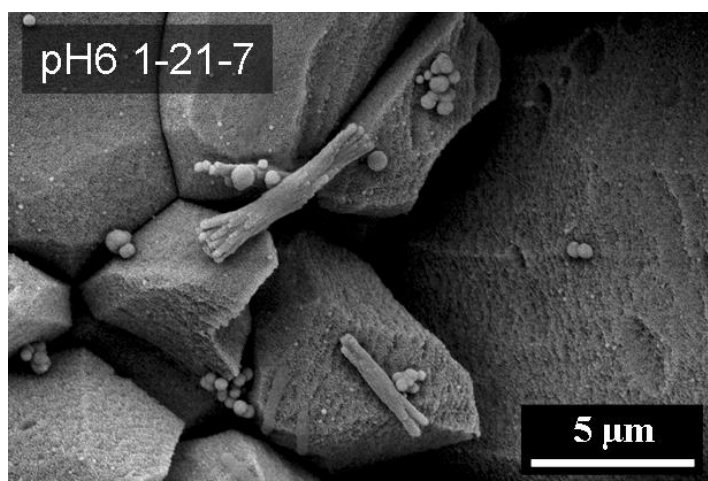
**Abbildung 2.2.6.4** REM-Aufnahmen: FAP-Lösungen bei pH 7 mit Anionenverhältnis von  $3:1=[\text{Phosphat}]:[\text{F}^-]$ ; Kristallisationszeit 6 d; links: Brushit; rechts: „flauschige“ FAP-Kugeln

Wie erwähnt wurden auch Morphologien beim pH 6.0 untersucht, wozu zwei Ansätze verwendet wurden.

Bei der Konzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  1-20-1 mM konnten keine Plättchen gefunden werden, sondern nur sonnenförmige Kristalle und einige wenige „flauschige“ Kugeln mit Kern. Dies ist mit der besseren Löslichkeit des Brushits zu erklären, welches bei pH 6.0 in Lösung blieb, statt sich abzuscheiden.

Bei der Konzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  1-21-7 mM wurden nur wenige Kristalle gefunden, vor allem stäbchenförmige Hantelkeime mit aufgespreizten Spitzen und dichte Kugeln (siehe Abb. 2.2.6.5), die für kleinere pH-Werte charakteristischen Morphologien des FAP. Dies zeigt, dass der pH-Wert zwar für die Entstehung einzelner Morphologien die wichtigste Rolle spielt, jedoch auch eine Änderung der Anionenkonzentration einen Einfluss haben kann.

Bei beiden Versuchen bei pH 6.0 entstanden zuwenig Kristalle, so dass keine XRD-Analyse möglich war. Die EDX-Analyse lieferte ähnliche Ergebnisse wie bei vorigen Versuchen; es handelte sich bei den entstandenen Kristallen also um FAP.



**Abbildung 2.2.6.5** REM-Aufnahme FAP-Lösung bei pH 6.0 mit Anionenverhältnis von 3:1=[Phosphat]:[F<sup>-</sup>]; Kristallisationszeit 4 d; Hantelkeime und dichte Kugeln

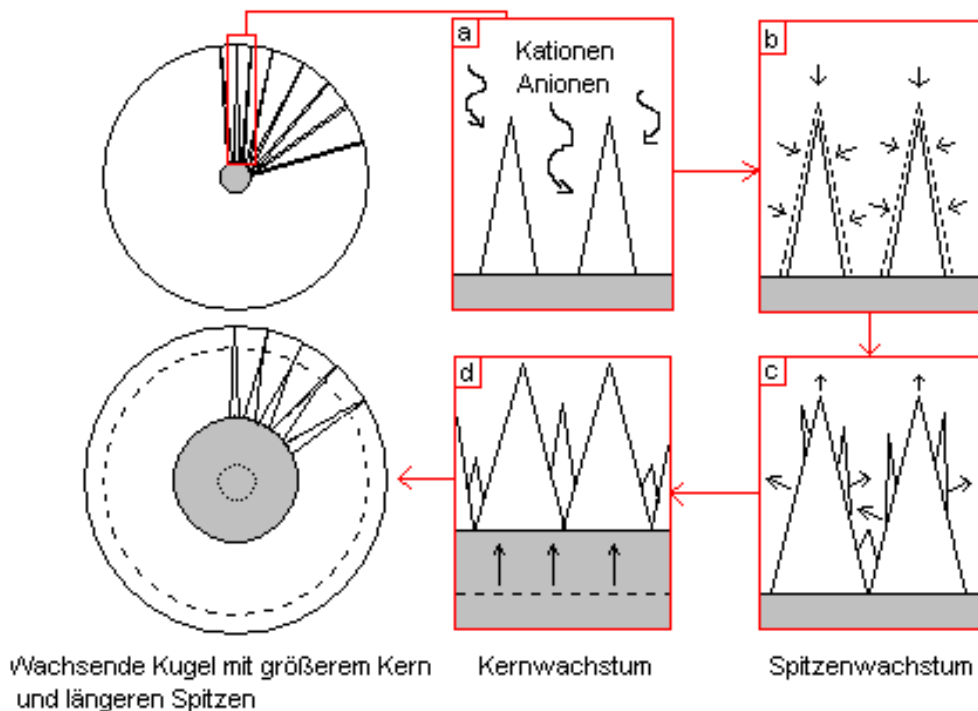
Anhand der oben zusammengestellten Ergebnisse wurde ein Modell für das Wachstum der bei erhöhter Anionenkonzentration hauptsächlich entstehenden „flauschigen“ FAP-Kugeln mit einem dichten Kern erstellt (siehe Abb. 2.2.6.6).

Beim entstehenden Kern handelt es sich wahrscheinlich um eine Verdichtung um den ursprünglichen Kristallisationskeim, aus dem nadelförmige Kristalle wachsen. Auf der Oberfläche der Nadeln kristallisieren weitere Ionen aus, sodass es einerseits zu einer Verlängerung der Spitze kommt und andererseits zu einer Verdickung vor allem im unteren



kernnahen Bereich. Die Verdickung findet vornehmlich unten statt, da die Wurzel der Nadel der älteste Teil ist, auf dem sich zeitlich am längsten Ionen niedergeschlagen haben (siehe Abb. 2.2.6.6 a, b). Weiter oben liegende Teile sind jünger, da das Wachstum in die Länge parallel zu dem in die Breite stattfindet. Der durch den Verbrauch der Ionen durch die Nadeloberfläche entstehende Konzentrationsgradient führt zu einer ständigen Nachlieferung von Ionen aus der Lösung zum Ort der Kristallisation.

Der bei verschiedenen großen „flauschigen“ Kugeln beobachtete nahezu gleiche Abstand der Nadelspitzen zueinander lässt sich durch das Entstehen neuer Nadelspitzen an den Stellen erklären, an denen zwei Nadeln sich durch Verdickung soweit annähern, dass sie ineinander wachsen (Abb. 2.2.6.6 c). Es wäre ebenso möglich, dass auf der Oberfläche der Ursprungsnadeln neue Nadelspitzen entstehen; jedenfalls kommt es im Verlauf des Kugelwachstums zu einer Vermehrung der Spitzen.



**Abbildung 2.2.6.6** Schema des Wachstums der „flauschigen“ Kugeln mit wachsendem Kern

Die unterschiedliche Größe der Kerne relativ zur sie umgebenden Kugel lässt sich mit der Kristallisationszeit erklären. Zu Beginn des Wachstumsprozesses dominiert noch das Wachstum in die Länge, da es einzelne Nadeln gibt, die sowohl in die Länge als auch in die Breite wachsen, wobei das Wachstum in die Breite aufgrund der höheren Oberfläche langsamer ist. Mit der Zeit beginnt das Kernwachstum zu dominieren, da der Abstand der Nadeln zueinander durch langsame Verdickung immer kleiner geworden ist, sodass nur noch wenig Wachstum in die Breite nötig ist, um den Abstand zu überwinden. So wachsen die

Nadeln seitlich ineinander und führen zu einem kompakten Kern (Abb. 2.2.6.6 d). Die oben erwähnte Bildung neuer Spitzen auf der seitlichen Oberfläche der ursprünglichen Nadeln könnte die Verdichtung zusätzlich unterstützen. Theoretisch wäre es bei der Lichtmikroskopie möglich, dass durch unterschiedliche Reflektionen der Kristallspitzen bei anderen Lichteinfallswinkeln aufgrund von verschiedenen großen Kugeln nur der Eindruck eines dichten Kerns entstehen könnte. Diese Möglichkeit kann durch REM-Aufnahmen einer aufgebrochenen Kugel mit sichtbarem Kern (siehe Abb. 2.2.6.3) ausgeschlossen werden.

Das wichtigste Ergebnis der Versuche mit erhöhter Anionenkonzentration ist das bloße Auftreten der bis zu 90 µm großen „flauschigen“ Kugeln mit einem wachsenden Kern. Da es bei Diffusionsversuchen aufgrund von verschiedenen Ionenwanderungsgeschwindigkeiten ebenfalls zu lokal erhöhten Anionenkonzentrationen kommen kann (siehe oben), wurden dort ebenfalls große „flauschige“ Kugeln mit einem Kern gefunden. Dort konnte jedoch nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob die Ionenkonzentration dafür ausschlaggebend war, da diese innerhalb der Diffusions-Anlagen nicht gemessen werden konnte. Erst Versuche nach der *dip-coating*-Methode mit kontrollierten Konzentrationen konnten die Entstehung der verschiedenen Morphologien und damit auch die Vorgänge in den Diffusionsanlagen näher erklären.

## **2.2.7 Hantelstruktur (Wachstum in Abhängigkeit von Zeit und Übersättigung)**

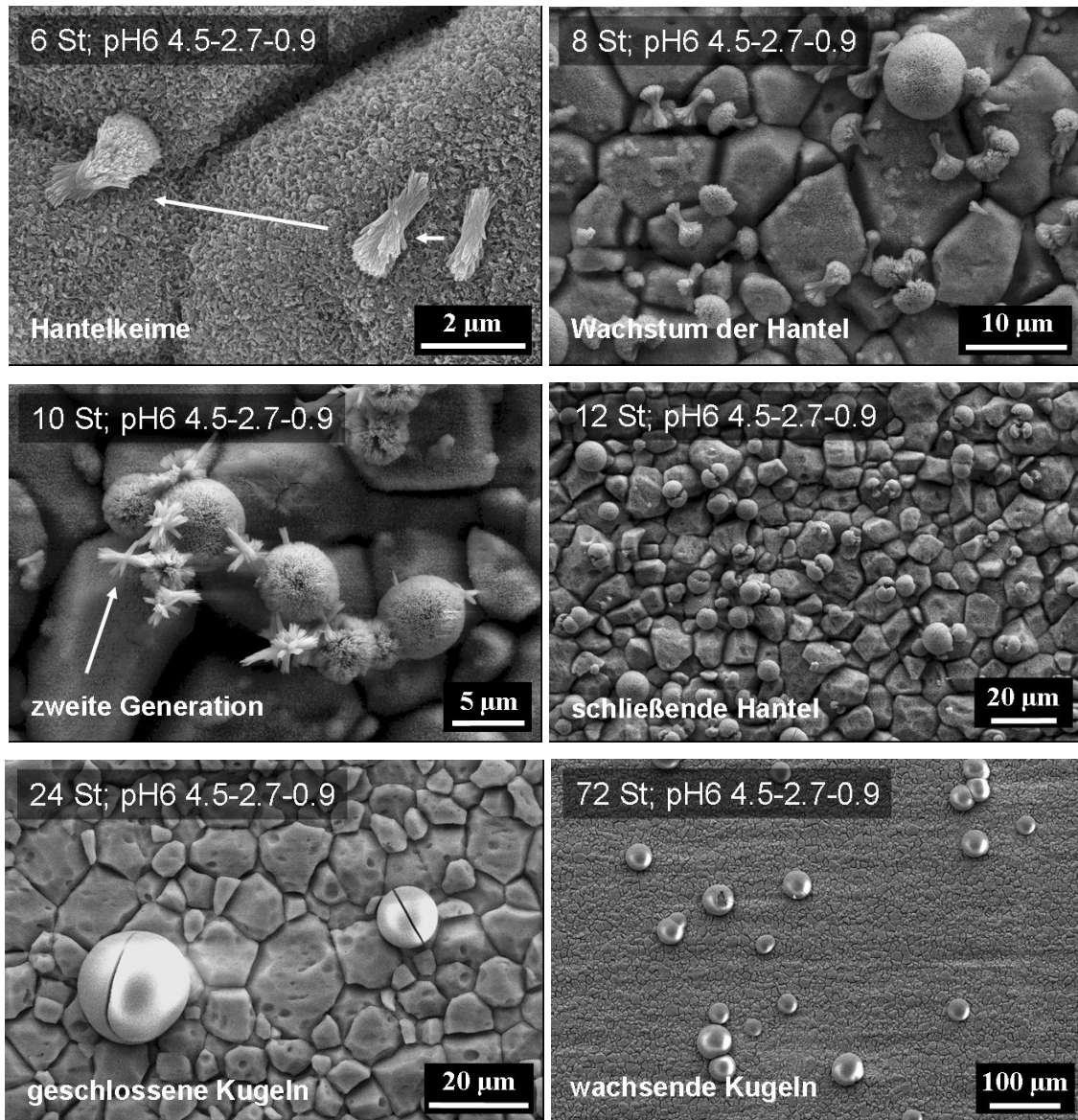
### **2.2.7.1 Hantelwachstum auf Titan (pH 6)**

Beim *dip-coating*-Verfahren mit chemisch bearbeiteten Metalloberflächen lässt sich die Kristallisationszeit relativ genau bestimmen, indem man die Proben einfach nach einer bestimmten Zeit aus der Tauchlösung herausnimmt. Schon normale Verunreinigungen können Kristallwachstum katalysieren, ebenfalls Metalloberflächen. Chemisch bearbeitete (hier: oxidierte) Oberflächen haben zusätzlich die Möglichkeit, die Kristallkeime aus der Lösung herauszuziehen und zu fixieren. Somit sind Kristallkeime sichtbar, die ohne diese Maßnahme in der Lösung nur schwer auffindbar wären und abhängig von der Zeit lässt sich die Entwicklung dieser Keime beobachten.

In diesem Kapitel wird das Wachstum der Hantel-Morphologie des FAP beschrieben, in Abhängigkeit von der Kristallisationszeit und unter Einbeziehung der Übersättigung.

Zu diesem Zweck wurde jeweils der Ansatz  $\text{Ca-PO}_4\text{-F } 4.5\text{-}2.7\text{-}0.9$  bei pH 6.0 gewählt, der in vorigen Testreihen als günstig für die Entstehung von Hanteln ermittelt wurde (siehe Kapitel 2.2.2.1). Dazu wurde jeweils der pH-Wert von 6.0 nach Anionenzugabe eingestellt, der sich nach der Calciumzugabe auf ca. 6.15 erhöhte. Es wurden 9 gleichartige Tauchlösungen mit je drei Proben angesetzt und nach 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 und 72 h wurden jeweils die Proben aus einem Gefäß herausgenommen, abgespült, getrocknet und mittels REM (siehe Abb. 2.2.7.1.1) untersucht. Zusätzlich wurde der pH-Wert nach Versuchsende bestimmt.

Andere Analysen wie IR, XRD oder EDX wurden nicht durchgeführt, weil diese Versuche zum Ziel hatten das Kristallwachstum zu erklären und von der Wahl des Ansatzes her klar war, dass FAP-Hanteln und -Kugeln entstehen würden.



**Abbildung 2.2.7.1.1** REM-Aufnahmen: FAP-Hantel-Wachstum bei pH 6 nach verschiedenen Kristallisationszeiten

REM-Untersuchungen (siehe Abb. 2.2.7.1.1) der wie beschrieben hergestellten Proben lieferten folgende Ergebnisse: *Nach 2 h* Kristallisationszeit waren auf der körnigen Titanoberfläche noch keine Fluorapatitkristalle sichtbar, der pH-Wert der Tauchlösung blieb konstant.

*Nach 4 h* fiel der pH-Wert leicht ab und die ersten an der Titanoberfläche haftenden Kristallkeime (ca. 1  $\mu\text{m}$ ) waren zu sehen. Diese Keime wiesen von Anfang an eine längliche und spitze Struktur auf, die *nach 6 h* (ca. 2  $\mu\text{m}$ ) schon eine Tendenz zum Hantelwachstum zeigte, d. h. die Spitzen am Ende begannen sich aufzuweiten und „flauschig“ zu werden.

*Nach 8 h* und einem weiteren Abfall des pH-Werts waren hauptsächlich Hanteln (ca. 4-6  $\mu\text{m}$ ) zu sehen, dazu jedoch auch schon die ersten geschlossenen Kugeln (ca. 8  $\mu\text{m}$ ). Somit können 8 h als Kristallisationszeit bis zum vollen Wachstum der Morphologie der „flauschigen“ Kugeln bezeichnet werden. Nach diesen 8 h nimmt die Anzahl der Kristalle nur noch wenig zu, es entstehen zwar immer noch einige wenige neue Kristallkeime, hauptsächlich wachsen jedoch die schon vorhandenen Hanteln zu Kugeln zu.

Die wenigen *nach 10 h* erkennbaren neuen Keime führen zu Kristallen der zweiten Generation (ca. 2  $\mu\text{m}$ ), wodurch die verschiedenen Wachstumsphasen teilweise nebeneinander beobachtet werden können.

*Nach 12 h* sind hauptsächlich geschlossene Kugeln (ca. 10  $\mu\text{m}$ ) und beinahe geschlossene Hanteln (ca. 8  $\mu\text{m}$ ) zu sehen, neben wenigen jüngeren Kristallen. Bei den geschlossenen Kugeln konnte zum Teil die Naht aufgenommen werden, an der die Kugel zusammenwuchs, sich also die beiden Hantelhälften trafen. Der pH-Wert fiel in dieser Zeit auf ca. 5.5 und änderte sich bei längerer Kristallisationszeit nicht mehr wesentlich.

*Nach 24 h* sind keine Kristallkeime mehr sichtbar, sondern nur noch größere geschlossene Kugeln (ca. 15-20  $\mu\text{m}$ ), die bei näherer Betrachtung allerdings immer noch „flauschig“ sind, also eine aus Nadeln bestehende Radialstruktur besitzen.

*Nach 48 h* wuchsen die Kugeln (ca. 20-25  $\mu\text{m}$ ) weiter bis sie *nach 72 h* schließlich einen Durchmesser von ca. 40-50  $\mu\text{m}$  erreichten, ohne Veränderung in der Oberflächenstruktur.

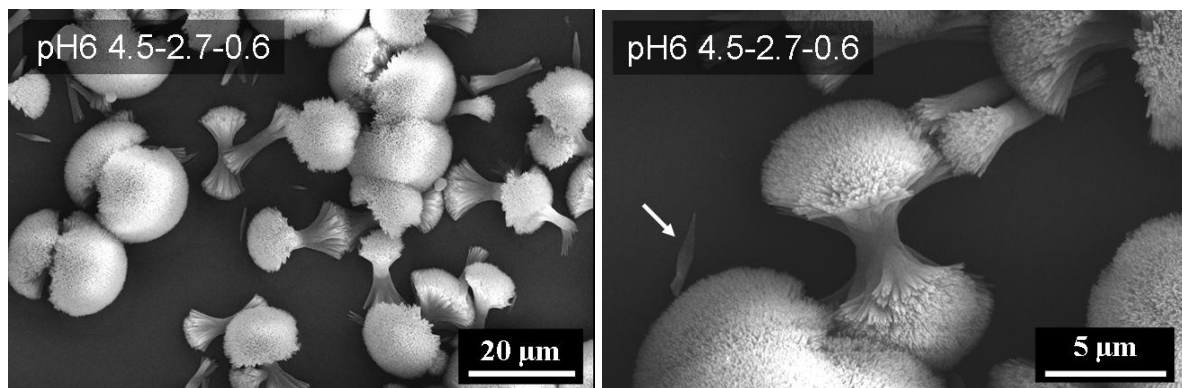
### **2.2.7.2 Hantelwachstum auf Polymer (pH 6 und pH 5)**

Um das Hantelwachstum besser zu verstehen wurden auch Versuche in Gegenwart von Polymerstücken als Probenträger in der Tauchlösung durchgeführt, um so Oberflächeneinflüsse wie beim oxidierten Titan auszuschließen. Die Polymerstücke (siehe Kapitel 2.2.1) wurden auf den Boden des Tauchgefäßes gelegt und nach jeweils 24 h

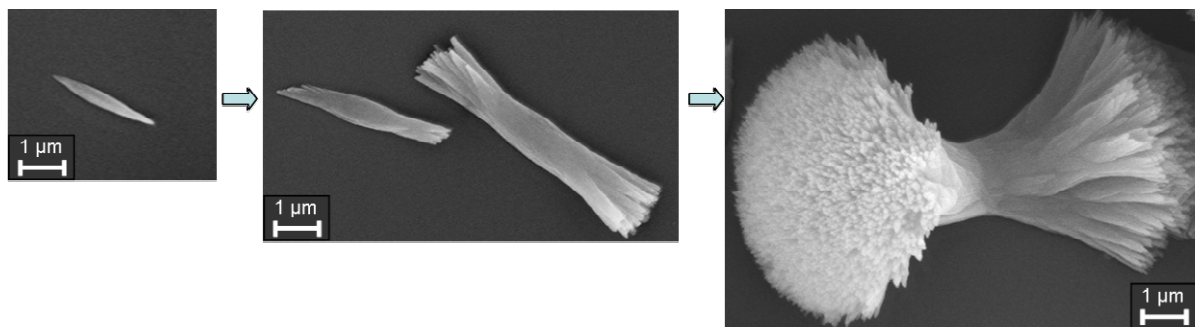


vorsichtig herausgenommen, da die entstandenen Kristalle nicht chemisch an die Polymeroberfläche gebunden waren. Ohne Abspülen wurden die Proben dann im Trockenschrank bei 37 °C getrocknet und mittels REM untersucht. Wie zuvor beschrieben (siehe Kapitel 2.2.2) tritt die Hantelmorphologie des FAP um den pH 6.0 auf, es wurden dazu noch Vergleichsversuche bei pH 5.0 und pH 7.0 durchgeführt.

Beim pH 6 mit  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  4.5-2.7-0.9 wurde die erwartete Hantelstruktur neben geschlossenen Kugeln gefunden (siehe Abb. 2.2.7.2.1), allerdings wurden Unterschiede im Wachstum beobachtet. Die Kristallkeime (ca. 2  $\mu\text{m}$ ) auf der Polymeroberfläche wiesen im Mittelteil eine Verdickung auf (siehe Abb. 2.2.7.2.2), weshalb sie mit den dazugehörigen Spitzen an den Seiten wie kleine Kajaks aussahen. In der weiteren Entwicklung bildeten sich in Wachstumsrichtung der ersten Spitzen zusätzliche Spitzen, die sich voneinander entfernten, während der dickere Mittelteil zwar an Umfang zunahm aber keine Tendenz zur Aufspaltung zeigte.

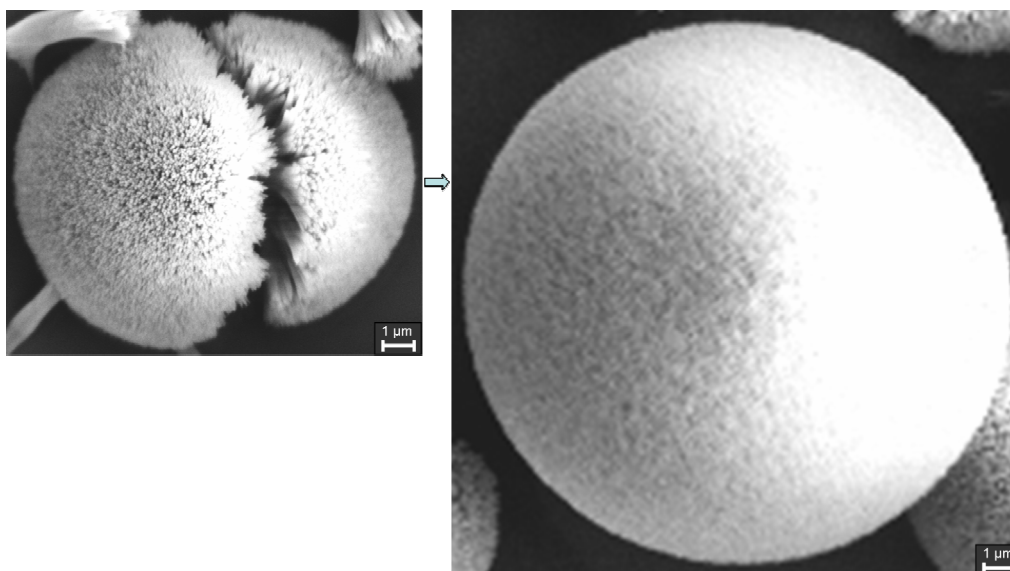


**Abbildung 2.2.7.2.1** REM-Aufnahmen: FAP-Hantel-Wachstum auf Polymer bei pH6.0; Kristallisationszeit 24 h



**Abbildung 2.2.7.2.2** REM-Aufnahmen im gleichen Größenmaßstab: Wachstum der Kajakförmigen Keime zu Hanteln; FAP-Lösung 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 24 h

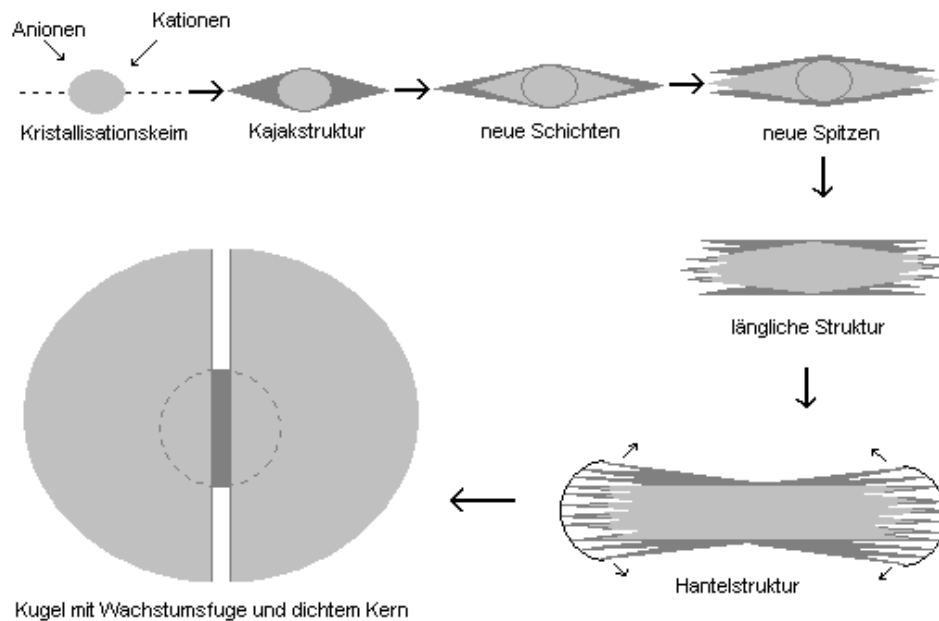
Beim weiteren Wachstum verlängerten sich die Spitzen zu Nadeln und wuchsen weiter nebeneinander, jedoch nicht ineinander. Durch den steigenden Platzbedarf bogen sich die Nadeln nach außen, wodurch die Hantelstruktur entstand. Schließlich trafen sich die Nadeln beider Seiten irgendwann (siehe Abb. 2.2.7.2.3) und schlossen die Kugel (ca. 20  $\mu\text{m}$ ).



**Abbildung 2.2.7.2.3** REM-Aufnahmen in kleinerem Maßstab: Wachstum der Hantel zur Kugel; FAP-Lösung 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 24 h

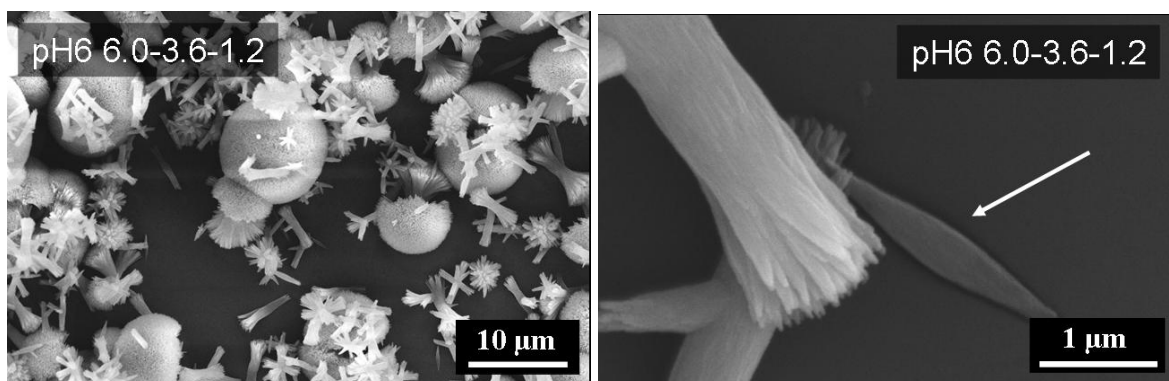
Zu erklären ist dieser Wachstumsmechanismus der Hanteln folgendermaßen: Aus dem ursprünglichen Kristallisationskeim wachsen in beide Richtungen entlang einer Achse die FAP-Nadeln, sodass die beschriebene Kajak-förmige Struktur entsteht (siehe Abb. 2.2.7.2.4). Diese Ursprungsnadel katalysiert als Festkörperoberfläche die weitere Kristallisation aus der Lösung. Die Nadel wächst nicht unbegrenzt in die Länge, sondern nur ca. 2-3  $\mu\text{m}$ , dann ist sie mit Spitzen abgeschlossen. Diese Spitzen (Durchmesser ca. 40 nm) verlängern sich nur noch wenig weiter und je weiter sie vom Zentrum der Nadel entfernt sind, desto mehr Aufspaltungen zeigen sie. Die Oberfläche des verdickten Mittelstücks hingegen ist sehr regelmäßig, was darauf hindeutet, dass die aus der Lösung abgeschiedenen Ionen Schichten auf dem Ursprungskeim bilden, die beim Wachsen in die Länge die Tendenz zeigen, wieder eine Nadelspitze zu formen. So entstehen an der Basis zusammenhängende Nadeln mit voneinander getrennten Spitzen, die jedoch eine sehr ähnliche Wachstumsrichtung besitzen. Die auf den neuen Spitzen entstehenden nächsten Schichten entwickeln erneut Spitzen, wodurch es zu einer Verlängerung und Aufweitung der Enden des Ursprungskeims kommt. Aus der Kajak-förmigen Struktur wird so zuerst eine an den Enden mit Spitzen besetzte gerade Struktur (ca. 6  $\mu\text{m}$ ) und später die Hantelstruktur (mindestens 10  $\mu\text{m}$ ). Die Ionen aus

der Lösung werden nicht nur für das Wachstum der Spitzen verbraucht, sondern führen aufgrund ihres schichtweisen Aufwachsens auf den Ursprungskeim zu einer Verdichtung bzw. Vergrößerung des Kerns. Dieser Kern kann mittels Lichtmikroskopie beobachtet werden.



**Abbildung 2.2.7.2.4** Schema des Wachstums eines Kajak-förmigen Keims über Hantelstruktur zur Kugel

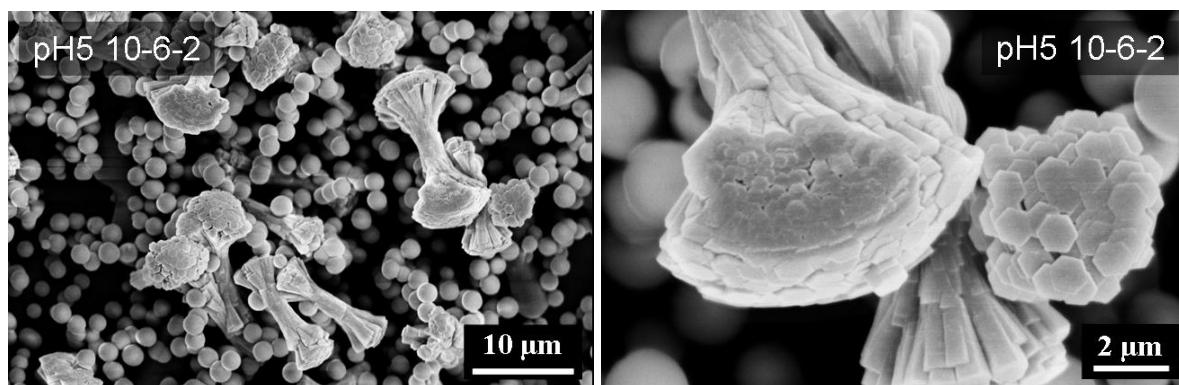
Zusätzlich wurden Versuche mit erhöhter Ionenkonzentration  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  6.0-3.6-1.2 bei gleichem pH-Wert unternommen, da die zuvor verwendete Standardkonzentration für Titan als ausreichend gefunden wurde, dies bei Polymeren allerdings noch nicht untersucht worden war. Die Konzentrationserhöhung führte lediglich zu einer Erhöhung der Kristallmenge (siehe Abb. 2.2.7.2.5) und hatte keinen Einfluss auf die Morphologie. Die Experimente haben noch mal bewiesen, dass die Hanteln aus den Kajak-förmigen Kristallen vorkommen.



**Abbildung 2.2.7.2.5** REM-Aufnahmen: Kajak-förmige Kristalle und „flauschige“ Kugeln; FAP-Lösung 6.0-3.6-1.2; pH 6.0; Kristallisationszeit 24 h

Bei pH 5 wurde von vornherein die Konzentration auf Ca-PO<sub>4</sub>-F 10-6-2 erhöht, da sich die Standardkonzentration bei Vorversuchen auf Titan als nicht ausreichend erwies.

Es wurden wie erwartet dichte Kugeln gefunden, aber interessanterweise auch eine zuvor noch nie bei Tauchversuchen beobachtete hexagonale Morphologien (siehe Abb. 2.2.7.2.6). Zuvor waren diese nur bei kontinuierlichen Versuchen beobachtet worden. Diese hexagonalen Prismen (Durchmesser ca. 0.5 µm) zeigten ebenfalls die Tendenz zum Hantelwachstum, aber statt spitzen Nadeln bestanden diese Hanteln (ca. 12-15 µm) aus einzelnen, miteinander verwachsenen Prismen. Dazu wuchsen diese Hanteln nicht bis zum Stadium der geschlossenen Kugel, jedenfalls nicht nach den 24 h Kristallisationszeit dieses Versuches, sondern blieben auf der Stufe der nicht sehr weit geschlossenen Hantel stehen.

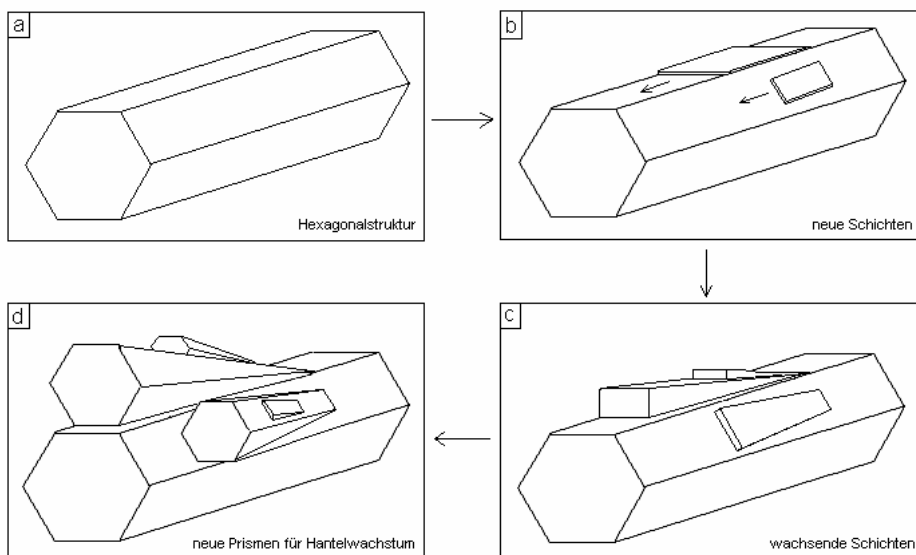


**Abbildung 2.2.7.2.6** REM-Aufnahmen: Hanteln mit hexagonaler Grundstruktur und dichte Kugeln; FAP-Lösung 10-6-2; pH 5.0; Kristallisationszeit 24 h

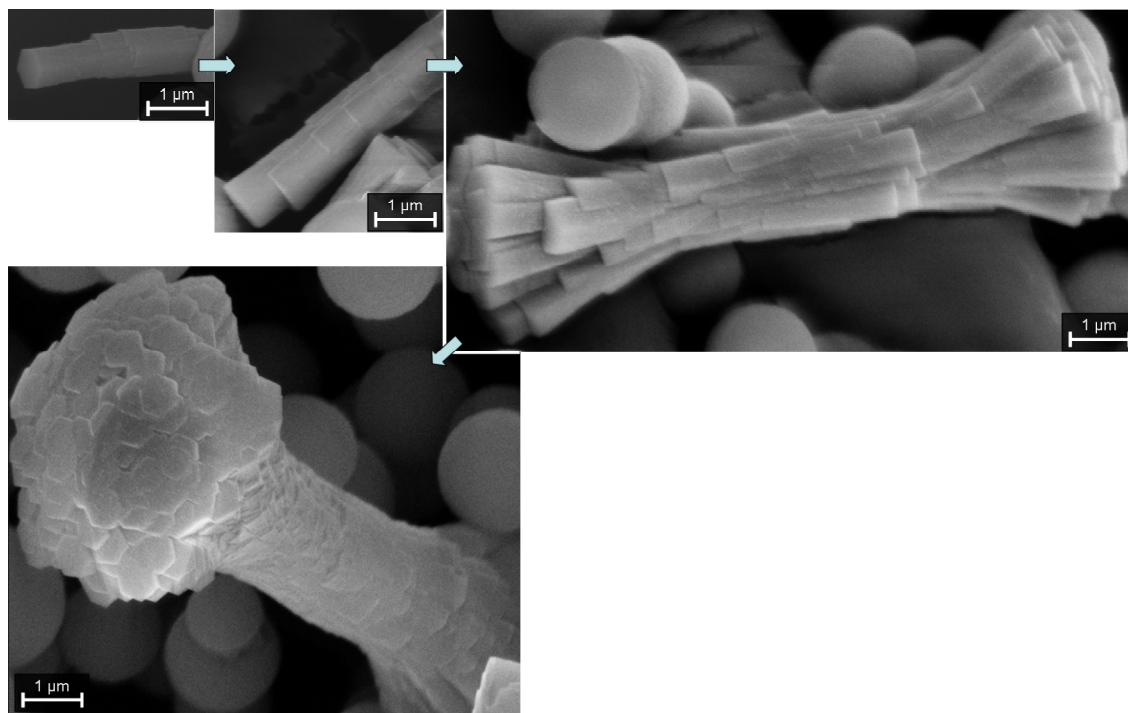
Der Unterschied zum Wachstum bei pH 6.0 ist schon der Kristallisationskeim, der statt einem Kajak ein einzelner hexagonaler Kristall ist (siehe Abb. 2.2.7.2.8). Von diesem aus wachsen sich neue Schichten in die Länge über keilförmige Formen zu neuen hexagonalen Kristallen aus (siehe Abb. 2.2.7.2.7). Das Wachstum ähnelt dem Nadelwachstum bei pH 6.0, nur ist die Grundstruktur eine andere. Außerdem lässt sich das Wachstum der hexagonalen Prismen noch besser beobachten, da die zuerst entstehenden Keile auf der Mitte der glatten Oberfläche einer Seite des hexagonalen Ursprungskeims sofort zu sehen sind.

Die Ionen bilden vor allem in der Mitte des Kristalls neue Schichten, da an den Enden die Ionen eher zum Längenwachstum des schon bestehenden Kristalls verwendet werden. Als Folge wird eine Verdichtung des Mittelteils beobachtet (siehe Abb. 2.2.7.2.7, 2.2.7.2.8). Auf den langsam größer werdenden Keilen beginnen schon neue Schichten zu entstehen, noch bevor die Keile sich zu hexagonalen Prismen weiterentwickelt haben. Dadurch entsteht eine sehr enge dichte Struktur ohne Lücken mit teilweise nicht mehr vollständig hexagonalen

Kristallen, die aus dem Zusammenwachsen einzelner Kristalle herrühren. Das Aufweiten an den Enden des Kristallkeims resultiert aus der Tendenz der neuen Schichten, ebenfalls hexagonale Strukturen zu bilden, wodurch deren Enden mehr Platz beanspruchen als die flachen Anfangsschichten. So entstehen bei dieser Morphologie kompakte Hanteln und ein von den zusätzlichen Schichten verdicktes Mittelstück.



**Abbildung 2.2.7.2.7** Schema des schichtweisen FAP-Wachstums der hexagonalen Prismen zu Hanteln bei pH 5.0



**Abbildung 2.2.7.2.8** REM-Aufnahmen im gleichen Maßstab: schichtweises Wachstum der hexagonalen Prismen zu Hanteln; FAP-Lösung 10-6-2; pH 5.0; Kristallisationszeit 24 h

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass FAP abhängig vom pH-Wert bei ausreichender Übersättigung in verschiedenen Morphologien auskristallisiert. Dabei ist zu bemerken, dass bei niedrigen pH-Werten von 3.0-5.0 kompakte Strukturen wie dichte Kugeln und Prismen vorliegen, wohingegen bei höheren pH-Werten von 6.0-7.0 nicht-kompakte Strukturen wie Hanteln, „flauschige“ Kugeln und Sonnen entstehen.

## 2.2.8 Einfluss der Ionenstärke auf das Hantelwachstum

Der in vorigem Kapitel beschriebene Wachstumsmechanismus der Hanteln ist vor allem pH-Wert abhängig. Theoretisch wäre es jedoch möglich, dass elektrostatische Wechselwirkungen bzw. Abstoßungen zwischen den Nadelenden für das nach außen Biegen der Nadeln verantwortlich sind. Deshalb wurde untersucht, ob die Ionenstärke einen Einfluss auf das Wachstum der aus Nadeln bestehenden Hantelstruktur hat, da bei verschiedenen pH-Werten auch die Ionenstärken unterschiedlich sind (siehe Tabelle 2.2.4.1).

Zu diesem Zweck wurden die Ionenstärken der verwendeten Lösungen von pH 3.0 bis 6.0 mittels einer Excel-Tabelle ausgerechnet und dann die höchste Ionenstärke ( $I=0.048 \text{ mol L}^{-1}$  bei pH 3.0 siehe Tabelle 2.2.4.1) als Maßstab für die spätere Erhöhung herangezogen. Wäre die Ionenstärke ein entscheidender Einfluss, so dürften bei einer Erhöhung auch beim passenden pH 6.0 keine hantelförmigen Kristalle mehr entstehen, genau wie bei niedrigen pH-Werten (dichte Kugeln).

Für alle Versuche im gewohnten 100 ml Tauchlösung bei pH 6.0 wurde die Standardkonzentration von  $\text{Ca-PO}_4\text{-F}$  4.5-2.7-0.9 eingesetzt und als Kristallisationszeit jeweils 12 und 24 h gewählt. Bei der kürzeren Zeit waren bei vorigen Versuchen die ersten vollständigen „flauschigen“ Kugeln neben Hanteln beobachtet worden und nach 24 h größtenteils Kugeln neben wenigen unverschlossenen Hanteln (siehe Abb. 2.2.7.1.1).

Zur Erhöhung der Ionenstärke wurde  $\text{KNO}_3$ -Lösung als inerte Elektrolyt verwendet. Sie wurde vor der Calciumzugabe zu der anionenhaltigen Lösung hinzugegeben, dann wurde der pH-Wert eingestellt. Mit der dafür angelegten Excel-Tabelle wurden die nötigen  $\text{KNO}_3$ -Zugaben errechnet, um die 2-8fache Erhöhung der Ionenstärke zu gewährleisten.

Die daraus hervorgehenden Werte für Phosphorsäureprotolyse, Ionenstärke, Übersättigung und andere sind in Tabelle 2.2.8.1 dargestellt.

Lösungen: Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KF	Protolyse H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (mol/L)		Zugabe von ... (mol/L)		FAP-Ionen-		FAP-Löslich- keitsprodukt (mol/L) <sup>9</sup>	Über- sättigung
					Stärke (mol/L)	Produkt (mol/L) <sup>9</sup>		
<b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.676·10 <sup>-7</sup> 2.543·10 <sup>-3</sup> 1.568·10 <sup>-4</sup> 7.679·10 <sup>-11</sup>	KOH	0.00012	0.0174	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.86·10 <sup>-58</sup>	7.63·10 <sup>11</sup>
<b>2-ionenstärke</b> <b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.676·10 <sup>-7</sup> 2.543·10 <sup>-3</sup> 1.568·10 <sup>-4</sup> 7.679·10 <sup>-11</sup>	KOH KNO <sub>3</sub>	0.00026 0.0707	0.08817	7.52·10 <sup>-46</sup>	2.45·10 <sup>-55</sup>	3.07·10 <sup>9</sup>
<b>3-ionenstärke</b> <b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.676·10 <sup>-7</sup> 2.543·10 <sup>-3</sup> 1.568·10 <sup>-4</sup> 7.679·10 <sup>-11</sup>	KOH KNO <sub>3</sub>	0.00028 0.1147	0.13218	7.52·10 <sup>-46</sup>	2.27·10 <sup>-54</sup>	3.32·10 <sup>8</sup>
<b>4-ionenstärke</b> <b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.676·10 <sup>-7</sup> 2.543·10 <sup>-3</sup> 1.568·10 <sup>-4</sup> 7.679·10 <sup>-11</sup>	KOH KNO <sub>3</sub>	0.00028 0.15904	0.17652	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.50·10 <sup>-53</sup>	5.01·10 <sup>7</sup>
<b>5.4- ionenstärke</b> <b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.676·10 <sup>-7</sup> 2.543·10 <sup>-3</sup> 1.568·10 <sup>-4</sup> 7.679·10 <sup>-11</sup>	KOH KNO <sub>3</sub>	0.00028 0.2208	0.23828	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.45·10 <sup>-52</sup>	5.17·10 <sup>6</sup>
<b>8-ionenstärke</b> <b>pH6</b> Ca-P-F in mM <b>4.5-2.7-0.9</b>	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	3.676·10 <sup>-7</sup> 2.543·10 <sup>-3</sup> 1.568·10 <sup>-4</sup> 7.679·10 <sup>-11</sup>	KOH KNO <sub>3</sub>	0.00028 0.33548	0.35296	7.52·10 <sup>-46</sup>	5.02·10 <sup>-51</sup>	1.50·10 <sup>5</sup>

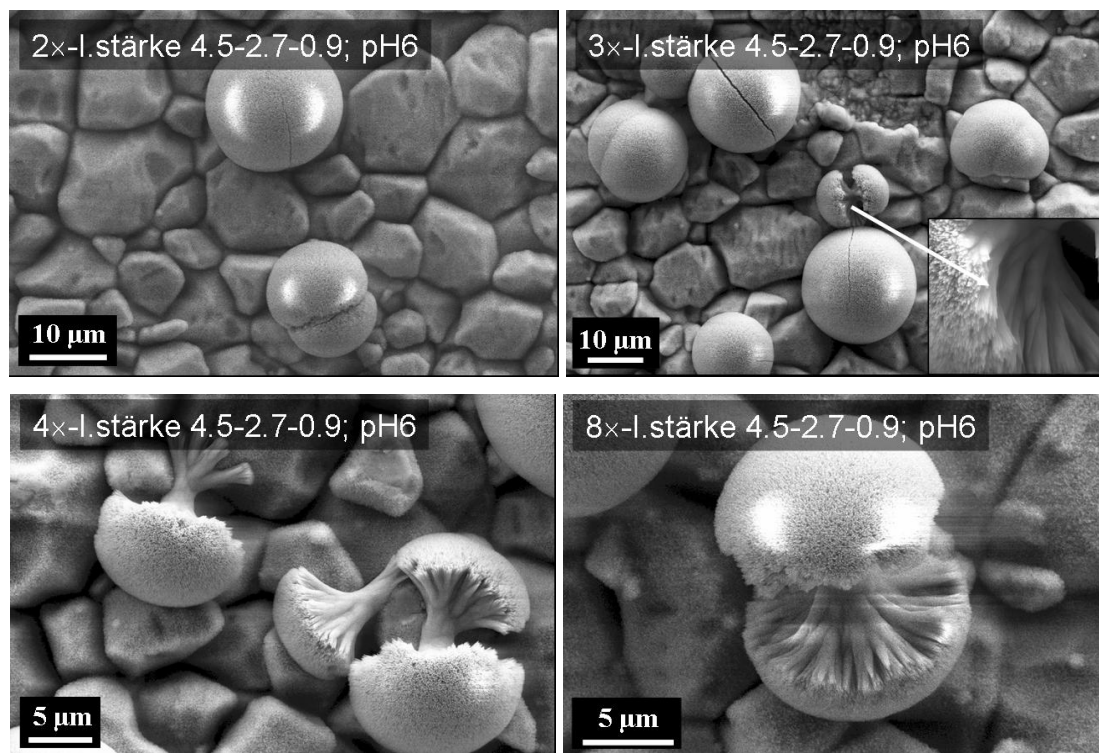
**Tabelle 2.2.8.1** Daten zu FAP-Lösungen mit erhöhten Ionenstärken bei pH 6 (siehe für Ionenstärke bei pH 3 Tabelle 2.2.4.1).

Bei allen durchgeführten Versuchen mit erhöhter Ionenstärke wurden hantelförmige Kristalle gefunden (siehe Abb. 2.2.8.1), obwohl die Ionenstärke bis zu 8-mal höher war als ansonsten bei pH 3.0, wo nur dichte Strukturen existieren. Die Proben waren augenscheinlich durchgängig gut beschichtet, was durch REM-Aufnahmen bestätigt wurde. Bei den verschiedenen Ionenstärken konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den entstehenden Morphologien festgestellt werden, es entstanden immer Hanteln und „flauschige“ Kugeln. Allerdings führte steigende Ionenstärke zu einer deutlicheren Verästelung innerhalb der Hanteln, also zu definierteren, besser voneinander getrennten Nadeln.

Nach 12 h dominierten im Gegensatz zu Versuchen bei normaler Ionenstärke die geschlossenen „flauschigen“ Kugeln (ca. 10-15 µm), gegenüber den wenigen sichtbaren Hanteln (ca. 8 µm). Dies spricht für ein gutes und früh einsetzendes Wachstum, da die meisten Hanteln es schon geschafft haben, sich zu Kugeln zu schließen. Nach 24 h sind fast ausschließlich geschlossene Kugeln (ca. 20 µm) zu sehen neben wenigen fast geschlossenen



Hanteln (ca. 12  $\mu\text{m}$ ). Das gute Wachstum auch bei stark erhöhter Ionenstärke zeigt, dass die Ionenstärke keinen entscheidenden Einfluss auf die Kristallbildung hat. Die kleinen beobachteten Unterschiede könnten neben der Ionenstärke auch mit dem Absinken der Übersättigung (Tabelle 2.2.8.1) zusammenhängen. Bei 8-facher Erhöhung der Ionenstärke fällt die Übersättigung von  $10^{11}$  auf  $10^5$ , da die Übersättigung vom Löslichkeitsprodukt abhängig ist (siehe Kapitel 2.2.4), welches wiederum von der Ionenstärke abhängt.



**Abbildung 2.2.8.1** REM-Aufnahmen: FAP-Hanteln aus Lösungen nach Tabelle 2.2.8.1; kein sichtbarer Einfluss der Ionenstärke

Diese Versuche zeigen, dass pH-Wert und Konzentration der für das FAP wichtigen  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{PO}_4^{3-}$ - und  $\text{F}^-$ -Ionen entscheidend für die entstehende FAP-Morphologie sind. Ein künstliches Absenken der Übersättigung durch  $\text{KNO}_3$ -Zugabe hat keinen großen Einfluss, wohingegen eine Absenkung der Übersättigung durch Verringerung der wichtigen Ionenkonzentrationen zum Ausbleiben der Kristallisation führt (siehe Abb. 2.2.4.3).

Dazu lässt sich sagen, dass bei erhöhter Ionenstärke der pH-Wert im Verlauf der 24 h Kristallisationszeit nur wenig oder überhaupt nicht fiel. Bei 2-3-facher Erhöhung fiel der pH-Wert nur um 0.3, bei 4-8-facher Erhöhung blieb der pH-Wert fast konstant. Üblich war ein Abfall bis 0.5. Dies könnte daran liegen, dass durch den Inertelektrolyten die Kristallisation innerhalb der Tauchlösung unterdrückt wurde und stattdessen nur auf der chemisch



aktivierten Titanoberfläche eintrat. Ein ähnlicher Einfluss von Elektrolyten auf die Kristallisation von Calciumphosphaten wurde von Barrère et al. gefunden<sup>[269]</sup>.

## 2.2.9 Einfluss von Tensiden und Polyelektrolyten auf das Hantelwachstum

Wie aus der Biomineralisation und technischen Kristallisationsprozessen bekannt ist, kann die Gegenwart von Additiven einen starken Einfluss auf die Morphologien von wachsenden Kristallen haben. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss von Tensiden und Polyelektrolyten auf das Wachstum von FAP bei pH 6.0 und der Standard-Ionenkonzentration Ca-PO<sub>4</sub>-F 4.5-2.7-0.9 untersucht, da bei diesen Bedingungen die besonders interessanten Hantelstrukturen auftreten.

Lösungen: Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> KF	Zugabe von ... (mol/L)		FAP-Ionen-		FAP- Löslich- keitsprodukt (mol/L) <sup>9</sup>	Über- sättigung				
			Stärke (mol/L)	Produkt (mol/L) <sup>9</sup>						
pH6 Ca-P-F 4.5-2.7-0.9	KOH	0.00012	0.01740	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.86·10 <sup>-58</sup>	7.63·10 <sup>11</sup>				
CTAB	KOH	0.0004	0.01759	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.01·10 <sup>-57</sup>	7.45·10 <sup>11</sup>				
	CTAB	0.00005								
	KOH	0.0003					0.01779	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.04·10 <sup>-57</sup>	7.26·10 <sup>11</sup>
	CTAB	0.0003								
SDS	KOH	0.0002	0.01804	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.07·10 <sup>-57</sup>	7.04·10 <sup>11</sup>				
	CTAB	0.0006								
	KOH	0.0002					0.01834	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.11·10 <sup>-57</sup>	6.78·10 <sup>11</sup>
	CTAB	0.0009								
Triton	KOH	0.00009	0.01748	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.96·10 <sup>-58</sup>	7.55·10 <sup>11</sup>				
	SDS	0.0001								
	KOH	0.00009					0.01758	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.01·10 <sup>-57</sup>	7.45·10 <sup>11</sup>
	SDS	0.0002								
	KOH	0.0001								
SDS	0.0003									
Triton	KOH	0.00011	0.01789	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.05·10 <sup>-57</sup>	7.17·10 <sup>11</sup>				
	SDS	0.0005								
	KOH	0.00011	0.01799	7.52·10 <sup>-46</sup>	1.06·10 <sup>-57</sup>	7.08·10 <sup>11</sup>				
	SDS	0.0006								
	KOH	0.00009	0.01738	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.84·10 <sup>-58</sup>	7.64·10 <sup>11</sup>				
	Trion	16·10 <sup>-6</sup>								
Triton	KOH	0.00008	0.01738	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.83·10 <sup>-58</sup>	7.65·10 <sup>11</sup>				
	Triton	80·10 <sup>-6</sup>								
	KOH	0.00006	0.01737	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.82·10 <sup>-58</sup>	7.66·10 <sup>11</sup>				
	Triton	160·10 <sup>-6</sup>								
	KOH	0.00008	0.01738	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.83·10 <sup>-58</sup>	7.65·10 <sup>11</sup>				
	Triton	240·10 <sup>-6</sup>								
Triton	KOH	0.00008	0.01738	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.83·10 <sup>-58</sup>	7.65·10 <sup>11</sup>				
	Triton	320·10 <sup>-6</sup>								
Triton	KOH	0.00008	0.01738	7.52·10 <sup>-46</sup>	9.83·10 <sup>-58</sup>	7.65·10 <sup>11</sup>				
	Triton	640·10 <sup>-6</sup>								

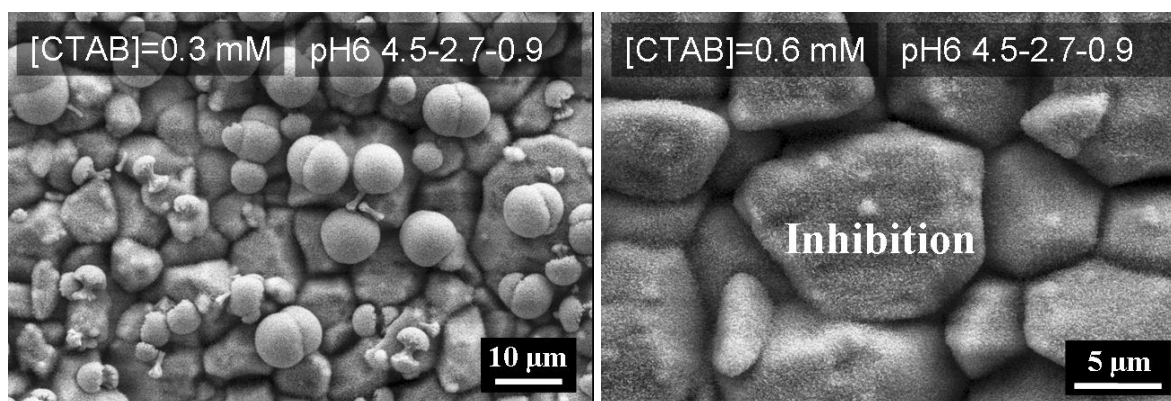
**Tabelle 2.2.9.1** Daten der FAP-Lösungen mit Tensid-Zugabe

Als Tenside wurden das kationische CTAB (*hexadecyl trimethyl ammonium bromide*), das anionische SDS (*sodium dodecyl sulfate*) und das nichtionische Triton<sup>®</sup> X-100 (*octylphenoxy polyethoxyethanol*; n=9-10) verwendet (siehe Tabelle 2.2.9.1). Als Polyelektrolyte wurden Polyasparaginsäure und Polylysin eingesetzt (siehe Tabelle 2.2.9.2).

Alle diese Zusätze wurden vor der Calciumzugabe zur Phosphat-Fluorid-Lösung hinzugegeben und nach pH-Einstellung auf 100 mL aufgefüllt, dadurch hatten alle Tauchlösungen einen pH von ca. 6.15. Die Kristallisationszeit bei den Tensiden betrug jeweils 12 h bei den Polyelektrolyten 24 h. Die für die Tenside angesetzten Konzentrationen bezogen sich jeweils auf die cmc und waren nicht willkürlich gewählt. Der cmc-Wert entspricht der Schwellenkonzentration, oberhalb der Tenside in Lösung Micellen bilden.

Bei CTAB beträgt die cmc 0.8-1.0 mM, die im Versuch verwendeten Konzentrationen stellten eine Reihe bis zum Erreichen dieser Konzentration dar (siehe Tabelle 2.2.9.1).

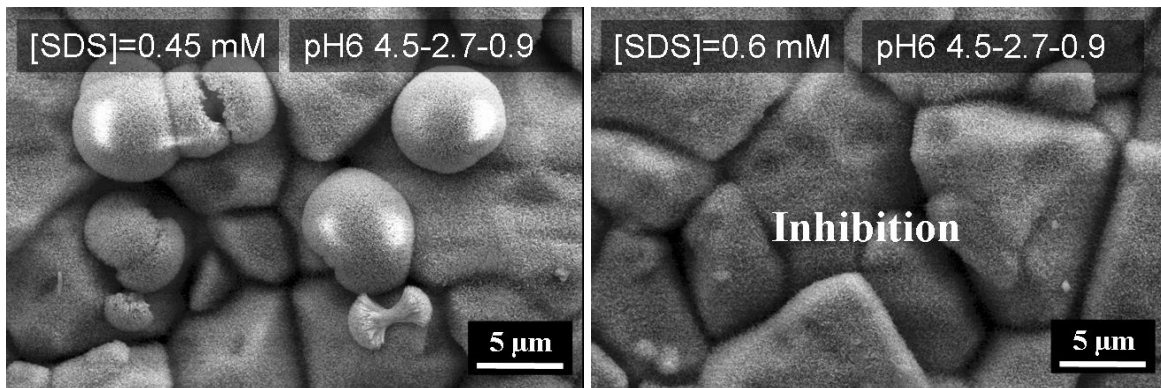
REM-Aufnahmen zeigen (siehe Abb. 2.2.9.1), dass bei geringer CTAB-Konzentration (0.05-0.3 mM) keine signifikante Änderung des Kristallwachstums eintritt, es liegen vor allem „flauschige“ Kugeln (ca. 10 µm) und Hanteln (ca. 5 µm) vor und die Bedeckung der Oberfläche liegt im üblichen Rahmen. Ab ca. 2/3 cmc und darüber kam es zu einer beinahe vollkommenen Inhibierung der Kristallbildung, es treten nur noch vereinzelt wenige kleine korallenförmige Kristalle auf (ca. 0.5-1 µm).



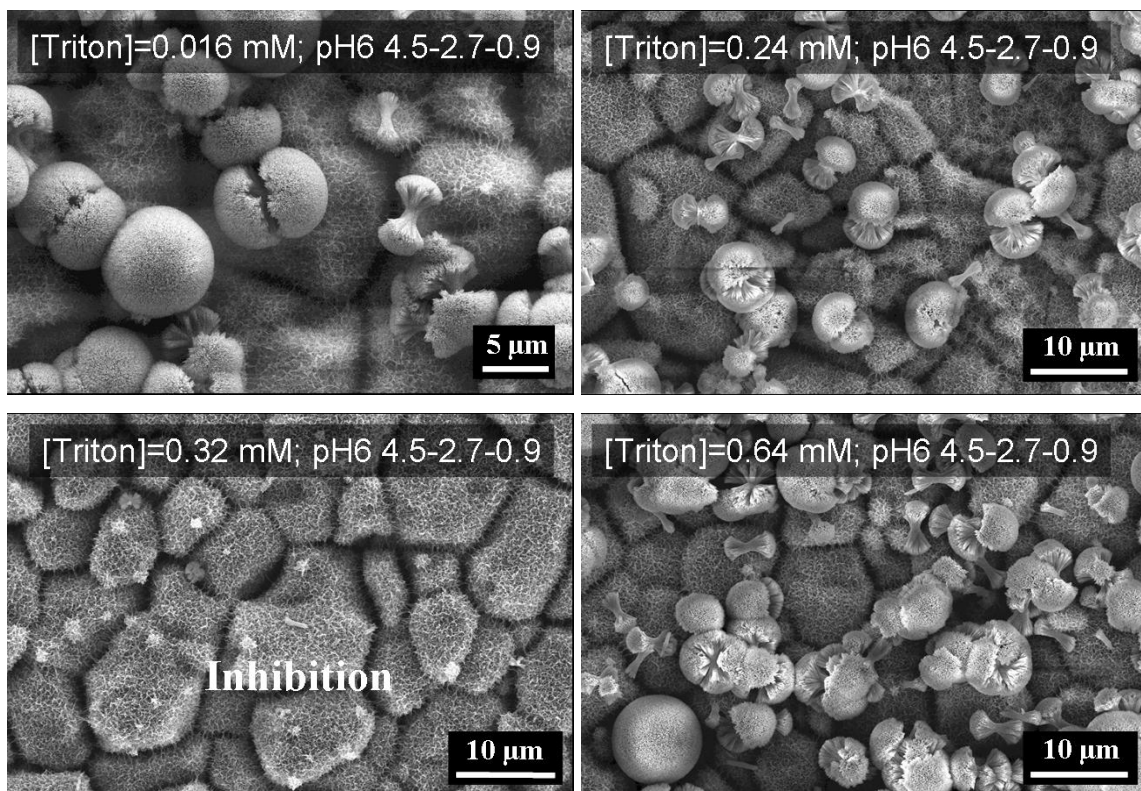
**Abbildung 2.2.9.1** REM-Aufnahmen: inhibierende Wirkung auf FAP-Wachstum von CTAB ab 0.6 mM (ca. 2/3 cmc); Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 12 h

Bei SDS beträgt die cmc 7.08-8.27 mM, deshalb wurde versucht die Konzentration bis zu diesen Werten zu erhöhen. Dies war allerdings nicht möglich, da es oberhalb einer Konzentration von 0.6 mM bei Calciumzugabe zur Lösung zu einer Trübung kam, weil das unlösliche Calciumsalz des SDS ausfiel (siehe Tabelle 2.2.9.1).

Das anionische SDS hat einen noch größeren Einfluss auf die Kristallisation als zuvor CTAB, hier tritt die Inhibierung schon bei ca. 1/10 cmc ein bei gleichzeitiger Entstehung von noch weniger kleinen korallenförmigen Kristallen (siehe Abb. 2.2.9.2). Bei niedrigerer SDS-Konzentration wurden die typischen Hantelstrukturen und „flauschigen“ Kugeln beobachtet, die allerdings etwas kleiner (ca. 7  $\mu\text{m}$ ) waren als bei CTAB.



**Abbildung 2.2.9.2** REM-Aufnahmen: inhibierende Wirkung auf FAP-Wachstum von SDS ab 0.6 mM (ca. 1/10 cmc); Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 12 h

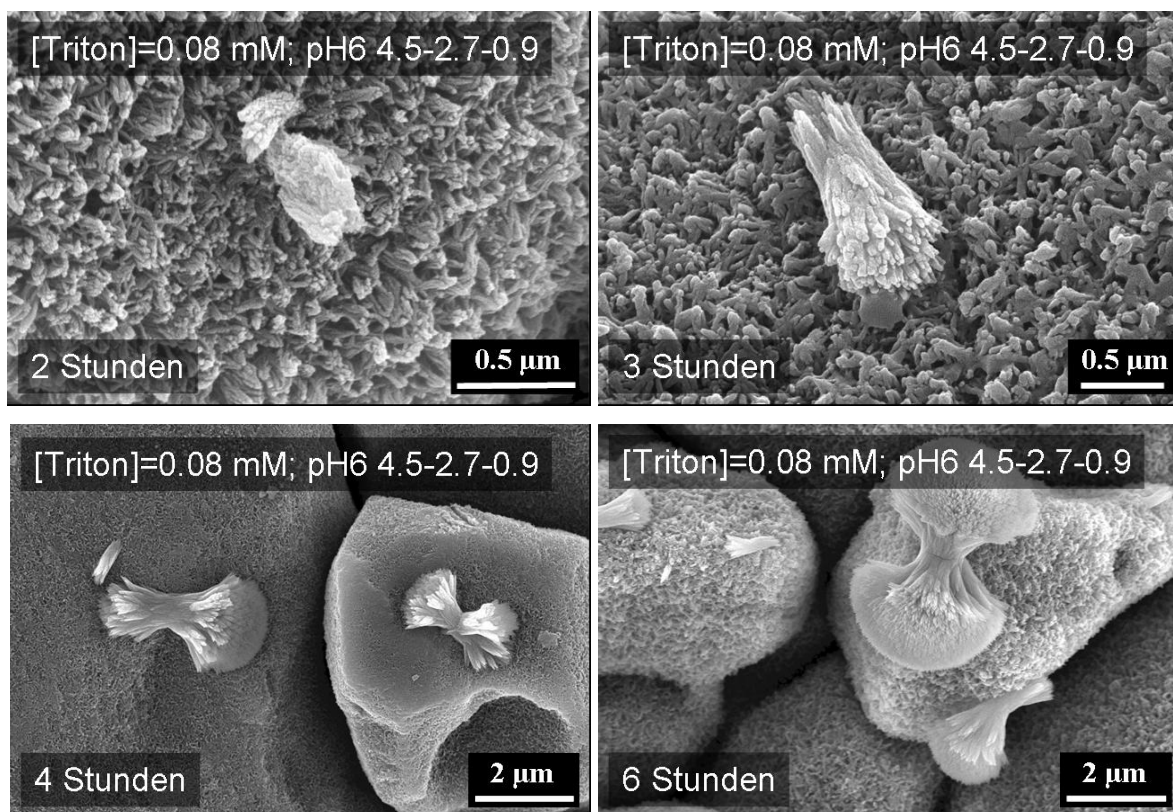


**Abbildung 2.2.9.2** REM-Aufnahmen: inhibierende Wirkung auf FAP-Wachstum von Triton<sup>®</sup> nur bei 0.32 mM (cmc); bei anderen Konzentrationen gutes Kristallwachstum; Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 12 h

Bei Triton<sup>®</sup> beträgt der cmc-Wert 0.23-0.30 mM, daher wurden zuerst nur Versuche bis zu diesem Bereich unternommen. Da dort aber bis kurz vor der cmc viele Kristalle gefunden wurden, wurde die Konzentration noch darüber hinaus erhöht. Für die verwendeten Konzentrationen siehe Tabelle 2.2.9.1.

Unterhalb und oberhalb der Konzentration von 0.32 mM wurden bei REM-Untersuchungen jeweils viele Kristalle gefunden (siehe Abb. 2.2.9.2), die immer eine vergleichbare Größe und Morphologie besaßen (Hanteln ca. 5 µm, „flauschige“ Kugeln ca. 9 µm) und die Titanoberfläche vollständiger bedeckten als bei Versuchen ohne Triton<sup>®</sup>. Weil nur bei 0.32 mM fast keine Kristalle, abgesehen von wenigen kleinen Nadeln (ca. 2 µm) und Korallen, gefunden wurden, wurden die Versuche um diesen Konzentrationsbereich (0.24, 0.32, 0.64 mM) wiederholt. An den Ergebnissen änderte sich nichts, es lässt sich also sagen, dass nur bei dieser einen Konzentration Triton die Bildung von FAP inhibiert.

Die Tatsache, dass bei allen Konzentrationen ungleich der cmc mehr Kristalle als im Normalfall gefunden wurden, führte zur Vermutung, dass Triton<sup>®</sup> als Keimbildner fungierte. Um das Kristallwachstum näher zu untersuchen, wurde die Konzentration 0.08 mM ausgewählt, obwohl auch andere möglich gewesen wären.



**Abbildung 2.2.9.3** REM-Aufnahmen: FAP-Wachstum in Gegenwart von Triton nach verschiedenen Kristallisationszeiten; Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0

Wie zuvor mit reiner FAP-Lösung (siehe Kapitel 2.2.7.1) wurden Versuche mit unterschiedlichen Kristallisationszeiten (1, 2, 3, 4, 6, 10 h) durchgeführt, bei denen die verschiedenen Wachstumsstadien der FAP-Kristalle beobachtet werden konnten.

Die REM-Aufnahmen bewiesen (siehe Abb. 2.2.9.3), dass Triton<sup>®</sup> tatsächlich das FAP-Wachstum beschleunigte. Die ersten Kristallkeime entstanden schon nach 2 h wohingegen bei reiner FAP-Lösung (siehe Kapitel 2.2.7.1) erst nach 4 h Keime beobachtet wurden. Die ersten deutlichen Hanteln (ca. 5 µm) entstanden in Gegenwart von Triton<sup>®</sup> schneller, nämlich in 6 h, wo bei reiner FAP-Lösung nur kleine Nadeln (ca. 1-2 µm) existierten. Somit wurde die Vermutung bestätigt, dass Triton für die FAP-Kristallisation als Keimbildner fungiert.

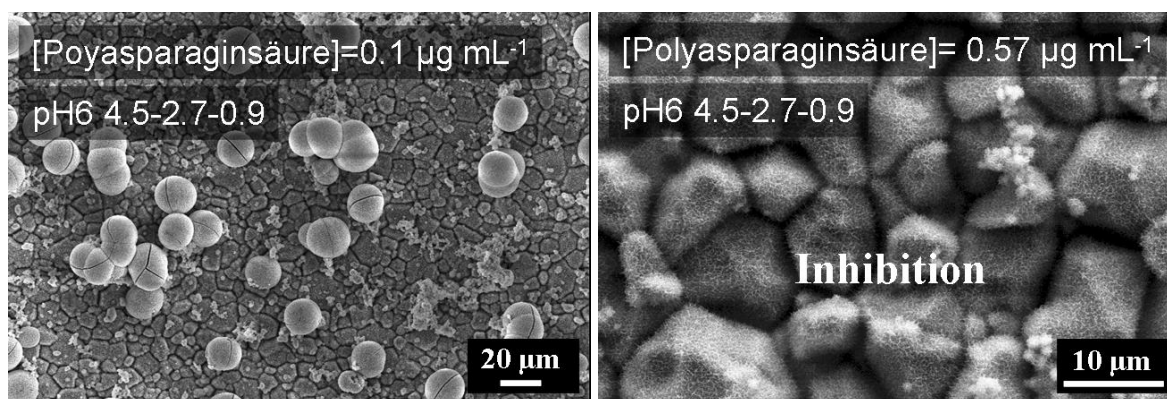
	Konzentrationen					
Polyasparaginsäure	0.1 µg mL <sup>-1</sup>	0.3 µg mL <sup>-1</sup>	0.57 µg mL <sup>-1</sup>	1.14 µg mL <sup>-1</sup>	2.28 µg mL <sup>-1</sup>	3.42 µg mL <sup>-1</sup>
Polylysin	0.89 µg mL <sup>-1</sup>	1.62 µg mL <sup>-1</sup>	2.42 µg mL <sup>-1</sup>	6.45 µg mL <sup>-1</sup>	7.23 µg mL <sup>-1</sup>	12.1 µg mL <sup>-1</sup>

**Tabelle 2.2.9.2** verwendete Konzentrationen der Polyelektrolyte

Bei Polyasparaginsäure wurde eine größere Reihe von Konzentrationen untersucht, da keine Vorgabe wie ein cmc-Wert bei den Tensiden existierte. Die verwendeten Konzentrationen stehen in Tabelle 2.2.9.2.

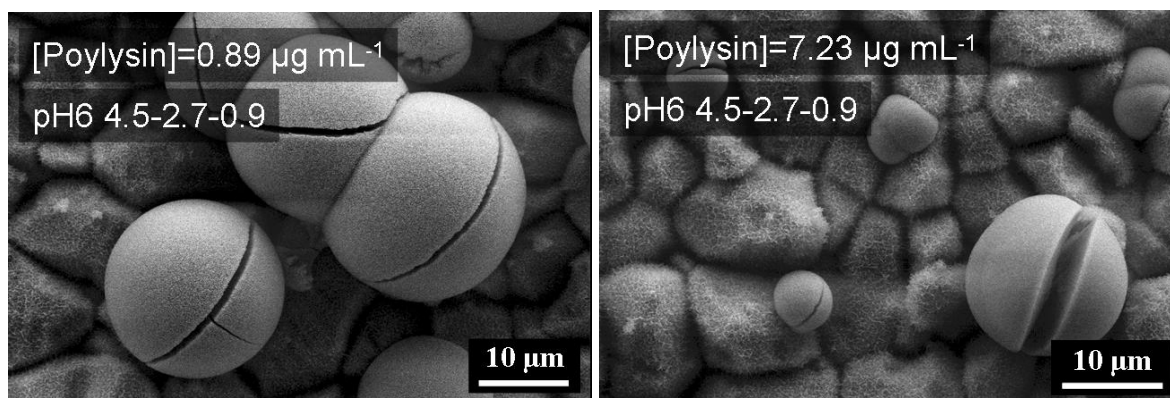
REM-Untersuchungen zeigen (siehe Abb. 2.2.9.4), dass Polyasparaginsäure das FAP-Wachstum schon bei sehr kleinen Konzentrationen (ab 0.57 µg mL<sup>-1</sup>) inhibiert. Auf der Titanoberfläche wurden nur wenige korallenförmige Kristalle gefunden. Bei 0.1 µg mL<sup>-1</sup> wurden einzelne für 24 h durchschnittlich große Kugeln (ca. 20 µm) beobachtet. Eine Erhöhung auf 0.3 µg mL<sup>-1</sup> führte zu einer Verkleinerung (ca. 12 µm) und einem Verwachsen der „flauschigen“ Kugeln, wodurch eine dickere Beschichtung entstand. Die Kugeln besitzen oft keine geordnete Radialstruktur und überschneiden sich häufig mit ihren Nachbarn.

Da aber an einigen Stellen Nadeln und Hanteln zu sehen waren, lässt sich sagen, dass auch diese Morphologie aus den gleichen Vorstufen entsteht, wie die zuvor beobachteten „flauschigen“ Morphologien. Eine ähnliche Inhibition von Polyasparaginsäure auf das Wachstum von FAP wurde von Leveque et al. gefunden<sup>[263]</sup>.



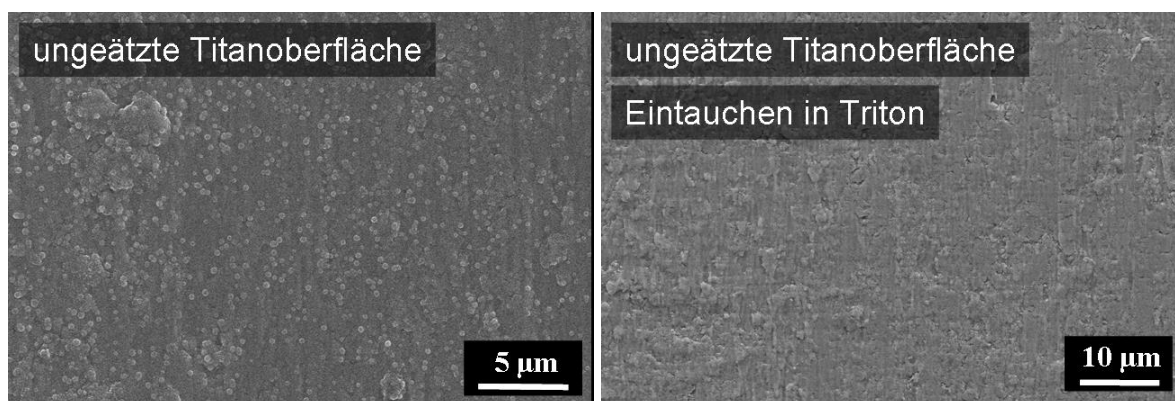
**Abbildung 2.2.9.4** REM-Aufnahmen: inhibierende Wirkung auf FAP-Wachstum von Polyasparaginsäure schon bei sehr kleinen Konzentrationen; Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 24 h

Der Einfluss von Polylysin (zu den Konzentrationen siehe Tabelle 2.2.9.2) wurde ebenfalls untersucht, dabei wurde entdeckt, dass der inhibierende Effekt von Polylysin geringer war als der von Polyasparaginsäure. Es entstanden ausschließlich „flauschige“ Kugeln verschiedener Größen (bis ca. 20 µm) mit äquatorialen Brüchen (siehe Abb. 2.2.9.5). Die Brüche sehen aus, als wären die Kugeln durch Trocknen aufgeplatzt, ein Effekt, der noch nie zuvor beobachtet wurde. Auch die Spitzen der radialen Nadeln sehen feiner aus, was den Kugeln insgesamt einen kompakteren Anblick verleiht. Teilweise weist eine einzelne Kugel mehr als einen Riss auf, als hätte sie unter starker Spannung gestanden. Dieser einmalige Effekt kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht erklärt werden. Es lässt sich allerdings sagen, dass weniger Kugeln entstanden sind, als ohne den Zusatz von Polylysin. Zum Teil kam es sogar zu einer Totalinhibierung, was zu der Aussage führt, dass Polylysin auf jeden Fall einen negativen Einfluss auf die FAP-Kristallisation hat.



**Abbildung 2.2.9.5** REM-Aufnahmen: kein inhibierender Effekt auf FAP-Wachstum von Polylysin, nur „Aufplatzen“ der Kugeln; Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 24 h

Zusätzlich wurde untersucht, ob die verwendeten Tenside durch ihr Adsorptionsvermögen an Metalloberflächen in der Lage waren, die Keimbildung für die Kristallisation an einer ungeätzten Titanoberfläche zu ermöglichen. Dazu wurden abgesehen von Säuberung unbehandelte Titanproben für 10 bis 300 s in verschiedenen konzentrierte Tensidlösungen (CTAB: 0.1, 1.0 mM; SDS: 0.1, 0.5 mM; Triton®: 0.24 mM), deren Konzentrationen in vorigen Versuchen Erfolge gebracht hatten, gehalten. Danach wurden die von Tensiden benetzten Proben für 12 h in eine Standard FAP-Tauchlösung bei pH 6.0 gelegt, zusätzlich auch eine Referenzprobe ohne Tensidbehandlung.



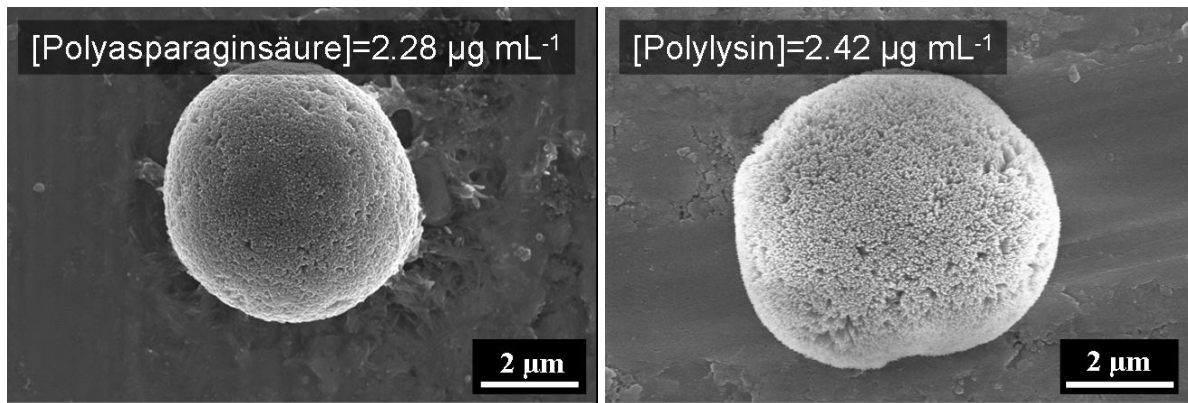
**Abbildung 2.2.9.6** REM-Aufnahmen: ungeätzte Ti-Oberflächen mit und ohne Eintauchen für 300 s in Triton® (0.24 mM); keine Entstehung von Kristallen nach Eintauchen in FAP-Lösung Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 12 h

Auf keiner der Proben, auch nicht auf der Referenzprobe, wurden FAP-Kristalle gefunden. Obwohl die Proben auf dem Gefäßboden lagen, lässt sich sagen, dass keines der verwendeten Tenside die Keimbildung von FAP-Kristallen auf der unbearbeiteten Titanoberfläche gefördert hat. Auch das zuvor die Keimbildung fördernde Triton® war offenbar nicht ausreichend an die Oberfläche adsorbiert, um die Kristallisation genau dort einzuleiten (siehe Abb. 2.2.9.6 rechts). Sollten doch Kristalle entstanden sein, so sind diese wahrscheinlich beim Herausnehmen der relativ kleinen Proben von der Oberfläche abgefallen, weil zwischen ihnen keine chemische Bindung bestand. Um die Einflüsse derartiger Zusätze zu untersuchen, müsste man eine ionenziehende Oberfläche verwenden, wie zuvor mit Titan getan. Dann ist es möglich die in der Lösung entstehenden und von den Zusätzen beeinflussten Keime anzuziehen und zu fixieren, sodass sie auf REM-Aufnahmen sichtbar werden.

Auch mit den Polyelektrolyten (Polyasparaginsäure:  $2.28 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; Polylysin:  $2.42 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) wurden Tauchversuche mit unbearbeiteten Titanproben, wie mit den Tensiden, durchgeführt.



In REM-Aufnahmen waren auf der Titanoberfläche fast keine Kristalle zu sehen, nur sehr wenige „flauschige“ Kugeln (ca. 6  $\mu\text{m}$ ), die auf einer Unebenheit der Oberfläche hafteten (siehe Abb. 2.2.9.7). Dies ist aber eher als Zufall zu bewerten, Polyasparaginsäure und Polylysin fungierten nicht als adsorbierte Keimbildner, ansonsten hätten viel mehr Kristalle entstehen müssen.



**Abbildung 2.2.9.7** REM-Aufnahmen: ungeätzte Ti-Oberflächen mit Eintauchen für 30 s in Polyasparaginsäure ( $2.28 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) und in Polylysin ( $2.42 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); fast keine Kristalle (nur wenige „flauschige“ Kugeln) nach Eintauchen in FAP-Lösung Ca-P-F 4.5-2.7-0.9; pH 6.0; Kristallisationszeit 24 h



### 2.2.10 Zusammenfassung

Nach der tiefgehenden Untersuchung des Wachstums von Fluorapatit lassen sich folgende Aussagen treffen:

1. Zur Kristallisation von Fluorapatit ist keine organische Matrix nötig.
2. Eine ionenziehende Metalloberfläche beschleunigt die Kristallisation, aber auch ohne eine solche können Kristalle gefunden werden (wie auf Polymeren oder schon mit FAP beschichteten Titanoberflächen).
3. Die entstehende Morphologie ist vor allem vom pH-Wert abhängig, bei niedrigen pH-Werten (3.0-5.0) dominieren kompakte Strukturen (dichte Kugeln; hexagonale Prismen), bei höheren pH-Werten (5.5-7.4) nicht-kompakte Morphologien (Hanteln => „flauschige“ Kugeln; Sonnen => Schnee), darüber (8.0-10.5) nur wenig Kristallisation (außer kleinen korallenförmigen Kristallen).
4. Die Ionenkonzentration von Calcium, Phosphat und Fluorid spielt bei gleich bleibendem 5-3-1 Verhältnis eine untergeordnete Rolle. Eine Änderung dieses Verhältnisses zwischen diesen Ionen beeinflusst die entstehende Morphologie teilweise sehr deutlich.
5. Es wurden Modelle für das Wachstum der flauschigen Kugeln über die Vorstufen der Nadeln und Hanteln entwickelt, dazu auch für das Wachstum der hexagonalen Prismen zu dichteren Hanteln.
6. Eine Erhöhung der Ionenstärke und damit verbundene Senkung der Übersättigung spielt für das Hantel-Wachstum keine große Rolle.
7. Verschiedene Zusätze beeinflussen das FAP-Wachstum: Ionische Tenside (CTAB, SDS) inhibieren das FAP-Wachstum, während ein nichtionisches Tensid (Triton®) das Wachstum beschleunigt. Polyelektrolyte (Polyasparaginsäure, Polylysin) üben ebenfalls einen inhibierenden Einfluss aus.

## 2.3 Untersuchungen von HAP-Beschichtungen nach dem Plasmaspray-Verfahren

Der Hauptzweck der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen an HAP-Beschichtungen durch Plasmaspray war der Vergleich mit selbst hergestellten HAP-Beschichtungen nach dem *dip-coating*-Verfahren.

Das Plasmaspray-Verfahren ist eine häufig verwendete Methode zur Beschichtung von Knochenimplantaten verschiedener Art wie Endoprothesen, Schrauben und anderen<sup>[230]</sup>. Der hauptsächlich verwendete Implantatwerkstoff ist Titan, dessen Biokompatibilität durch die Calciumphosphatbeschichtung noch erhöht werden soll<sup>[237, 240]</sup>. Die Beschichtung ermöglicht den umgebenden Knochen ein Anwachsen an die Implantatoberfläche, wodurch die Fixierung des Implantats problemloser und schneller abläuft. Ein schlecht fixiertes Implantat, z. B. aus unbeschichtetem Titan, hat ein erhöhtes Lockerungsrisiko bei mechanischer Belastung, da der Knochen um ein bioinertes Material nur herum wächst und keine chemische Verbindung zur Oberfläche eingeht. Das Implantat ist nur durch den mechanischen Druck des wachsenden Knochens fixiert. Zusätzlich kann die chemisch am NiTi-Substrat gebundene CaP-Beschichtung (im Fall der *dip-coating*-Methode) als schützende Schicht vor möglicherweise freigesetzten Ni-Ionen fungieren<sup>[245]</sup>. Um diesen Problemen entgegenzuwirken, werden Prothesen mit Calciumphosphaten beschichtet.

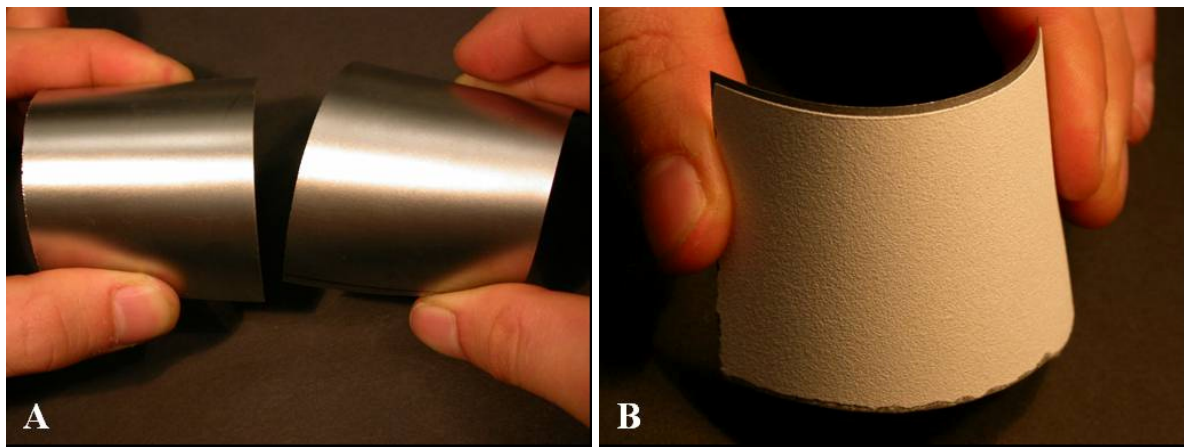
In dieser Arbeit wurden verschiedene medizinisch verwendete Implantatmaterialien untersucht: Reines Titan und die Titanlegierungen Ti6Al4V und NiTi.

Das Hauptaugenmerk wurde dabei auf NiTi gerichtet, da NiTi aufgrund seiner außergewöhnlichen Eigenschaften (siehe Kapitel 1.6.4) sehr interessant für den medizinischen Einsatz ist.

Für die durchgeführten Untersuchungen wurde von allen drei Materialien jeweils glattes und durch Sandstrahlen aufgerautes Blech geliefert, um den Einfluss der Oberflächenrauigkeit auf die Haftung der Schicht zu untersuchen. Lieferant der sechs verschiedenen Bleche war Memory Metalle (Weil am Rhein, Deutschland). Stücke mit den Abmessungen 100×100×0.3 mm<sup>3</sup> wurden von Sulzer Metco AG (Wohlen, Schweiz) beschichtet.

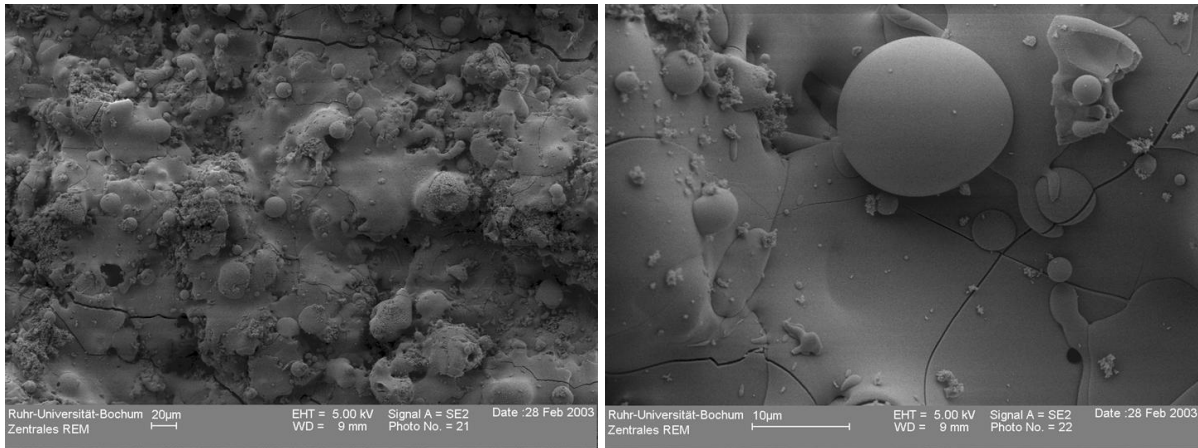
### 2.3.1 Beschichtungseigenschaften und Oberflächenuntersuchung mittels REM und EDX

Alle gelieferten Proben waren vollständig beschichtet und zeigten eine gute Adhärenz der Calciumphosphatbeschichtung an die Oberfläche, wobei die teilweise vor der Beschichtung durchgeführte Aufrauung keinen optischen Einfluss zeigte. Die nach Herstellerangaben ca. 100 µm dicke Beschichtung haftete so gut an der Oberfläche, dass es selbst beim Biegen der Metallstücke nicht zum Abplatzen des Calciumphosphats kam (siehe Abb. 2.3.1.1 B). Erst beim Zerschneiden der Proben für verschiedene Untersuchungszwecke kam es an den Schnittkanten zum Abplatzen der Schicht.



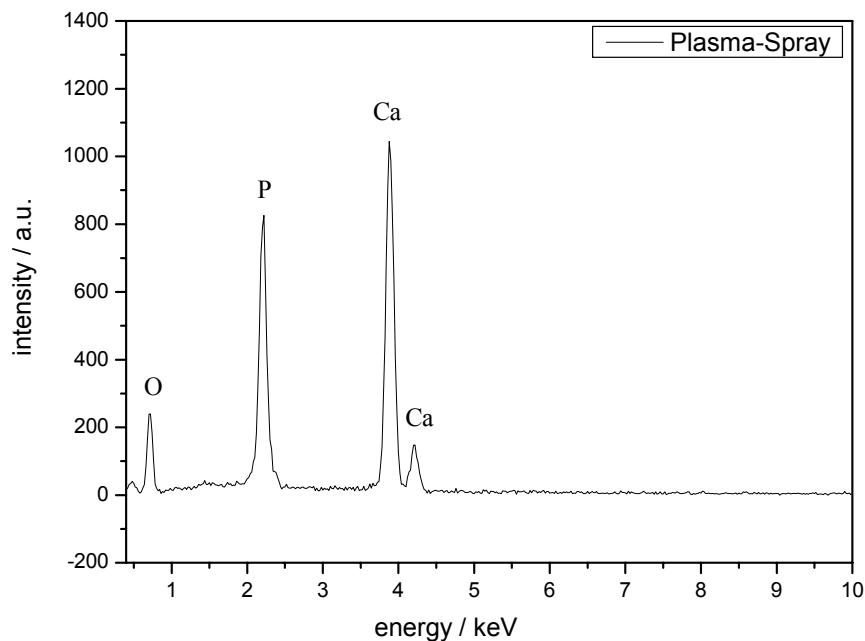
**Abbildung 2.3.1.1** (A) gebogenes NiTi; (B) mit HAP beschichtetes NiTi mit an Schnittkante abgeplatzter Beschichtung (unten), durch Zerschneiden der beschichteten Probe

REM-Untersuchungen an den beschichteten Proben zeigten die typische Mikromorphologie (siehe Abb. 2.3.1.2), von Calciumphosphatschichten nach dem Plasmaspray-Verfahren. Die beim Beschichtungsprozess auftretenden hohen Temperaturen (siehe Kapitel 1.6.7) führen zu verfestigten Tröpfchen des geschmolzenen Hydroxylapatitpulvers. Es waren keine offensichtlichen Unterschiede zwischen den sechs verschiedenen Proben zu erkennen, offenbar hatte die Aufrauung keinen Einfluss auf die Morphologie der Beschichtung. Die Metalloberfläche war jeweils komplett bedeckt, ohne dass Fehlstellen oder Löcher sichtbar waren. Die Beschichtung war nicht vollkommen glatt, sondern besaß Unebenheiten die im Verlauf des Beschichtungsprozesses entstanden.



**Abbildung 2.3.1.2** REM-Aufnahmen: tropfenförmige HAP-Morphologie bei nach Plasmaspray-Verfahren beschichteter Probe

EDX-Analysen (siehe Abb. 2.3.1.3) zeigten ebenfalls keinen Unterschied zwischen den sechs verschiedenen Proben. Es wurden nur Peaks gefunden, die von Calcium, Phosphor und Sauerstoff hervorgerufen wurden, aber keinerlei Signale der Metalloberflächen. Das bedeutet, dass die Beschichtung dick genug war, um die darunter liegende Probenoberfläche vollständig zu verdecken.



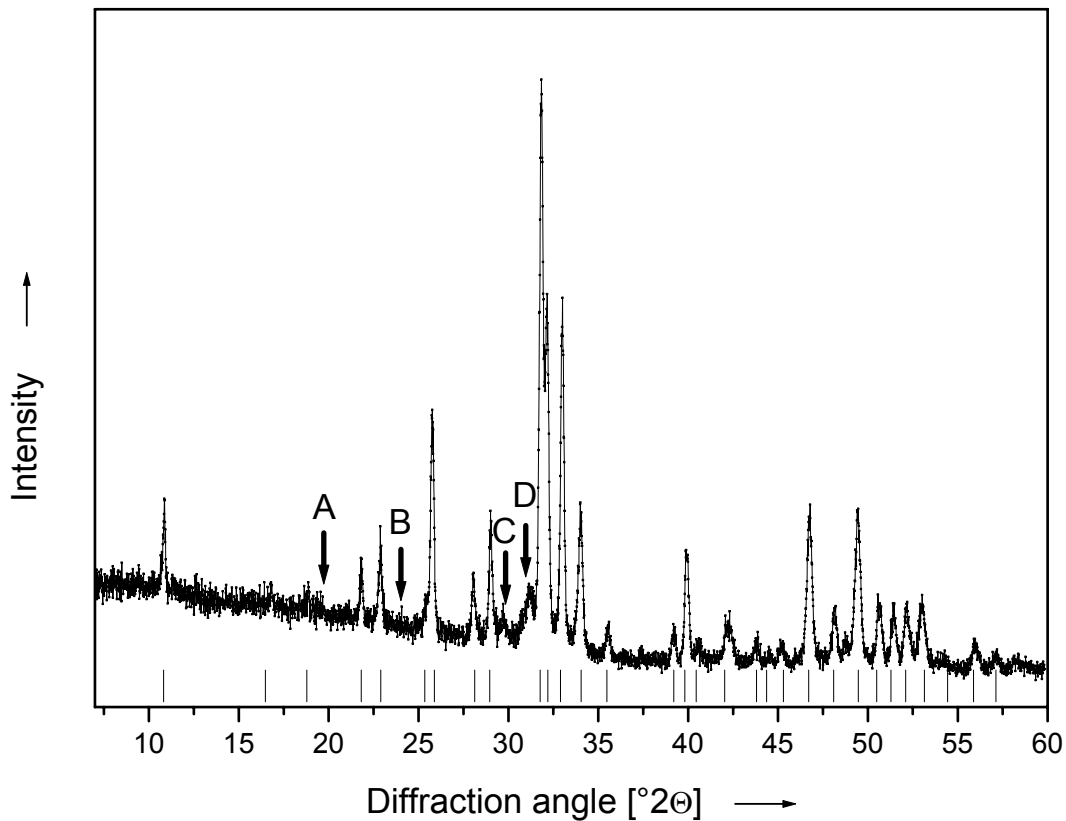
**Abbildung 2.3.1.3** EDX-Analyse der HAP-Schicht nach dem Plasmaspray-Verfahren; wegen Dicke der Schicht sind Ni oder Ti nicht nachweisbar, sondern nur Calcium, Sauerstoff und Phosphor

### 2.3.2 XRD- und Infrarot-Analysen

Für die Durchführung der XRD-Analysen wurde jeweils ein 10×10 mm großes Stück aus den beschichteten Proben ausgeschnitten und nach Bragg-Brentano in Reflektion untersucht.

Die XRD-Analyse zeigte keinen Unterschied zwischen den glatten und rauen Proben oder den unterschiedlichen Materialien. Die gut sichtbaren Peaks deuten auf eine hohe Kristallinität des auf die Oberfläche gebrachten Hydroxylapatits hin (Abb. 2.3.2.1). Hohe Kristallinität entsteht bei Temperaturen über 800 °C, die beim Plasmaspray-Verfahren weit übertroffen werden.

Allerdings wurden neben den für Hydroxylapatit typischen Peaks auch noch andere Peaks in den Winkelbereichen  $19.5^\circ 2\theta$ ,  $24.2^\circ 2\theta$ ,  $29.9^\circ 2\theta$  und  $31.1^\circ 2\theta$  gefunden, die auf der unteren XRD-Aufnahme mit A, B, C und D gekennzeichnet sind.

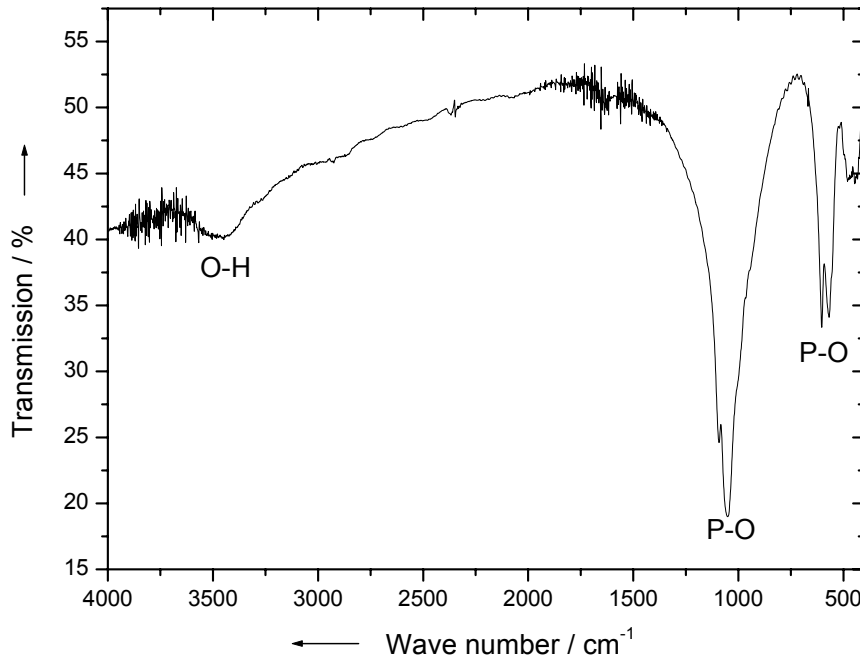


**Abbildung 2.3.2.1** XRD-Aufnahmen der HAP-Schicht auf NiTi nach dem Plasmaspray-Verfahren; nahezu alle Reflexe lassen sich HAP zuordnen; A, B, C, D gehören wahrscheinlich zu den Calciumphosphatphasen TTCP und  $\alpha$ -TCP

Genauere Untersuchungen führten zur Erkenntnis, dass die Reflexe B, C und D zu anderen Calciumphosphatphasen wie Tetracalciumphosphat (TTCP,  $\text{Ca}_4(\text{PO}_3)_2\text{O}$ ) und  $\alpha$ -Tricalciumphosphat ( $\alpha$ -TCP,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) gehören, wohingegen A nicht sicher zugeordnet

werden konnte. Diese Phasen sind Hochtemperaturphasen, die beim schnellen Abkühlen auf der Metalloberfläche konserviert wurden und auch von anderen Autoren gefunden worden sind.

Infrarotuntersuchungen der abgelösten Schicht wiesen ebenfalls keine Unterschiede auf und zeigten ausschließlich Banden von Calciumphosphat (siehe Abb. 2.3.2.2).



**Abbildung 2.3.2.2** Infrarot-Spektrum der abgelösten HAP-Schicht nach dem Plasmaspray-Verfahren zeigt nur Banden des Calciumphosphats

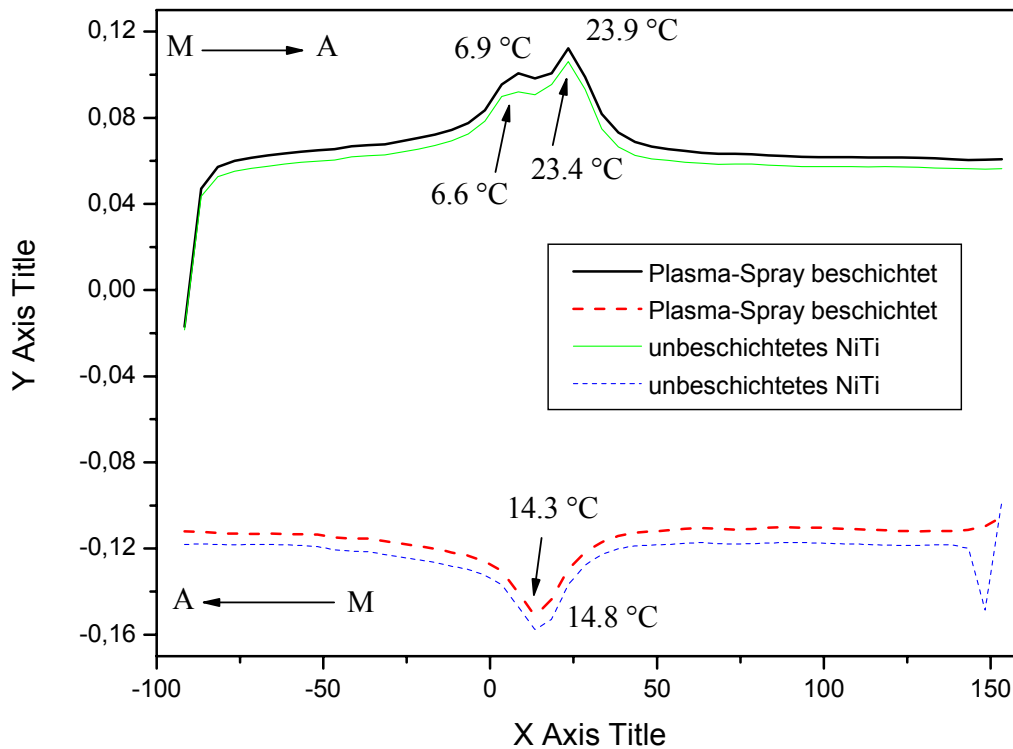
### 2.3.3 DSC-Analysen

Da das Plasmaspray-Verfahren mit hohen Temperaturen einhergeht, war es möglich, dass die mechanischen Eigenschaften der Metalle verändert werden. Dies betraf vor allem NiTi, welches je nach Herstellung bestimmte Phasenumwandlungstemperaturen in Martensit und Austenit besitzt. Durch die sehr heißen geschmolzenen HAP-Teilchen wurden die Proben sehr schnell aufgeheizt, wodurch die Phasenumwandlung verschoben werden könnte. Um diese Frage zu beantworten, wurden DSC-Analysen von unbeschichteten und nach dem Plasmaspray-Verfahren beschichteten NiTi-Proben durchgeführt (siehe Abb. 2.3.3.1).

Die Phasenumwandlungstemperaturen für die unbeschichtete Probe lagen bei Raumtemperatur, der Austenit-Peak (Heizen mit  $+5 \text{ K min}^{-1}$ ) lag bei  $23.4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , der Martensit-Peak (Kühlen mit  $-5 \text{ K min}^{-1}$ ) bei  $14.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Dazu wurde gezeigt, dass die Phasenumwandlung

beim Abkühlen über eine rhombische Phase („R-Phase“) verläuft, deren endothermer Peak bei 6.6 °C gefunden wurde.

Für die beschichtete NiTi-Probe wurden die Phasenumwandlungstemperaturen bei 23.9 °C (Austenit-Peak) und 14.3 °C (Martensit-Peak) und der endotherme Peak bei 6.9 °C gefunden. Daraus lässt sich schließen, dass die hohen Temperaturen beim Plasmaspray-Verfahren zu keiner Änderung der Phasenzusammensetzung der Legierung führten.



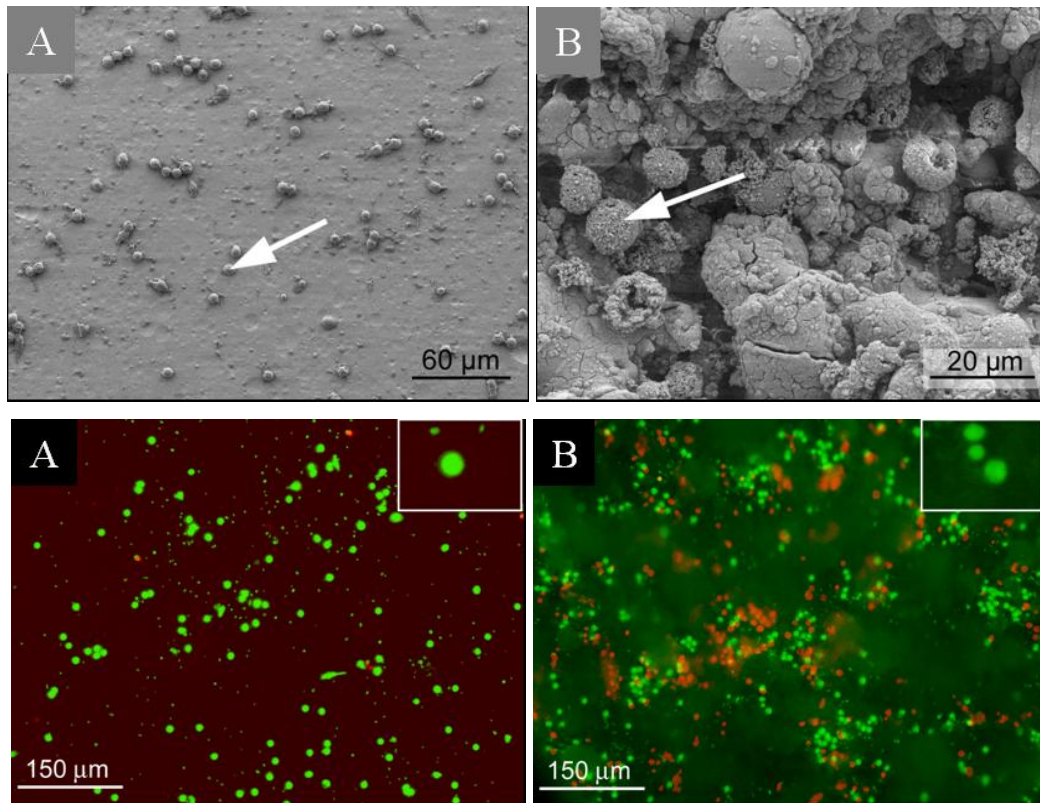
**Abbildung 2.3.3.1** DSC-Analysen der unbeschichteten NiTi-Probe und nach dem Plasmaspray-Verfahren beschichteten NiTi-Probe; keine signifikanten Unterschiede erkennbar. Aufheizen: durchgezogene Linie; Abkühlen: gepunktete Linie

## 2.3.4 Biologische Untersuchungen

Alle hier beschriebenen biologischen Untersuchungen wurden in der Abteilung für Experimentelle Unfallchirurgie im Krankenhaus Bochum-Bergmannsheil von Köller et. al. durchgeführt.

Dafür wurden Zellen des Vollbluts und isolierte Granulozyten (PMN = *polymorphonuclear neutrophils* - isolierte polymorphkernige neutrophile Granulozyten [Leukozyten]) verwendet. Die Biokompatibilitätstests (siehe Abb. 2.3.4.1) durch Kokultivierung auf Plasma-spray-beschichteten (B) und unbeschichteten NiTi-Proben (A) ergaben, dass sich zwar viele Zellen

auf der Calciumphosphatoberfläche ansiedeln, aber von diesen auch viele sterben. Dies wurde durch Mikrofluorographie-Aufnahmen deutlich, auf denen mit Calcein grün eingefärbte Zellen vital, mit Propidiumiodid rot eingefärbte jedoch tot sind. Man sieht bei PMN-Zellen deutlich, dass auf der Beschichtung zwar nicht die Mehrzahl der Zellen gestorben ist, aber ein deutlich sichtbarer Anteil von ca. 4.5 %. Auf reinem NiTi siedelten sich weniger PMN-Zellen an, von denen nahezu keine starben, was zeigt, dass NiTi selbst nicht cytotoxisch wirkt. Beim Vollblut siedeln sich ähnlich viele Zellen auf der Beschichtung an und vergleichbar viele sterben. Auf der unbeschichteten Probe sind praktisch genauso viele Zellen anwesend und damit wesentlich mehr als beim Versuch mit den PMN-Zellen. Aber auch bei dieser Untersuchung mit Vollblut starben praktisch keine Zellen auf der reinen NiTi-Oberfläche.



**Abbildung 2.3.4.1** oben: REM-Aufnahmen zeigen auf unbeschichtetem (A) und nach Plasmaspray-Verfahren beschichtetem (B) NiTi adhätierende Granulozyten; unten: Mikrofluorographie-Aufnahmen zeigen vitale Zellen (mit Calcein grün eingefärbt) und tote Zellen (mit Propidiumiodid rot eingefärbt); Einschübe oben rechts zeigen vergrößerte Zellen

Vergleicht man diese Ergebnisse mit dem Zellverhalten auf der HAP-Beschichtung nach dem *dip-coating*-Verfahren (siehe Kapitel 2.1.4), so wird deutlich, dass dort deutlich weniger PMN-Zellen sterben (ca. 0.5 %). Dazu zeigen REM-Bilder, dass die Zellen auf der unebenen



Calciumphosphatoberfläche nach dem Plasmaspray-Verfahren eine eher runde und abgegrenzte Gestalt annehmen, wohingegen sie sich auf der plättchenförmigen HAP-Oberfläche aus dem *dip-coating*-Verfahren ausbreiten und eine Tendenz zeigen, die Oberfläche zu bedecken. Das bedeutet, dass die Plasmaspray-Beschichtung den Zellen schlechtere Lebensbedingungen bietet, als die *dip-coating*-Beschichtung.

### 2.3.5 Zusammenfassung

Diese Untersuchungen zeigten, dass die aus dem Plasmaspray-Verfahren entstandene Beschichtung an der Oberfläche haftet, aber beim Schneiden der Proben abplatzte. Dies zeigt, dass die Bindung innerhalb der Beschichtung gut ist, jedoch die Bindung zur Metalloberfläche weniger stark ist als nach dem *dip-coating*-Verfahren. Dadurch entsteht ein höheres Abplatzrisiko, wenn das Implantat im Knochendefekt eingesetzt und belastet wird.

Zusätzlich wird dieses Risiko noch durch die Anwesenheit von leichter löslichen Calciumphosphatphasen erhöht. In den Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Calciumphosphatbeschichtung nach dem Plasmaspray-Verfahren neben der schwerlöslichen Hydroxylapatit-Hauptphase auch leichter lösliches TTCP und  $\alpha$ -TCP enthielt. Dies kann zu Problemen bei der Implantation führen, da eine schnellere Degradation der leichter löslichen Anteile der Beschichtung zu erwarten ist, wodurch es zur „Inselbildung“ kommen kann. Dies bedeutet, dass sich rund um ein Stück Hydroxylapatit die anderen Phasen aufgelöst haben, und deshalb sich diese „Insel“ leicht vom Untergrund ablösen kann. Gegen diesen Fremdkörper würden die körpereigenen Immunzellen kämpfen, was zu Entzündungen führen kann. Auch wenn die „Insel“ haften bleibt, so ist die Calciumphosphatbeschichtung nicht mehr gleichmäßig und es fällt dem Knochengewebe schwerer, an die ohnehin schon unebene Schicht anzuwachsen. Allerdings zeigt die klinische Erfahrung mit Calciumphosphat beschichtete Endoprothesen die guten Eigenschaften der Plasmaspray-Beschichtung.

Es wurde gezeigt, dass beim Plasmaspray-Verfahren keine Phasenänderungen im NiTi auftreten.

Biologische Untersuchungen zeigten noch keine deutlichen Ergebnisse, außer der Tatsache, dass sich Blutzellen auf einer Calciumphosphatschicht aus dem Plasmaspray-Verfahren schlechtere Lebensbedingungen haben, als auf einer Schicht nach dem *dip-coating* Verfahren.

Allgemein lässt sich aber sagen, dass jede der untersuchten Calciumphosphatbeschichtungen gutes Zellwachstum ermöglichte.

## 2.4 Untersuchungen an porösem NiTi

Poröse Strukturen erlauben beim Einsatz in Knochendefekten dem Knochen ein Einwachsen in die Poren (siehe Kapitel 1.6.5), wodurch es zu besserem Halt und größerer mechanischer Belastbarkeit kommt. Die Fähigkeit des Knochens zum Einwachsen in poröse Strukturen hängt von einer Reihe Faktoren wie der Art des Materials, der Porosität oder der Porengröße ab<sup>[130]</sup>.

Obwohl poröse Calciumphosphatkeramiken eine gute Osteoinduktivität und -konduktivität besitzen, können sie nicht in jedem Bereich eingesetzt werden, da sie für manche Anwendungen eine nicht ausreichende mechanische Belastbarkeit besitzen (Sprödigkeit). Diesem Problem kann aus dem Weg gegangen werden, wenn man duktilere Metalle oder Legierungen verwendet, deren mechanische Eigenschaften allerdings nicht zu weit von denen des Knochens abweichen dürfen. Poröse Strukturen beschleunigen im Vergleich mit dichten Körpern auch bei metallischen Implantaten die Fixierung im Knochendefekt. Auch eine gute Langzeitfixierung des Implantats im Knochendefekt wird so ermöglicht<sup>[270]</sup>.

Die für folgende Untersuchungen verwendeten porösen scheibenförmigen NiTi-Proben (Actipore<sup>®</sup>) wurden von Biorthex Inc. (Montreal, Kanada) geliefert<sup>[218]</sup>. Obwohl die Proben aus NiTi bestanden, zeigten sie unter Belastung durch Druckausübung oder Biegen mit der Hand keine superelastischen Eigenschaften.

Die Proben (Abmessungen: Durchmesser 7-10 mm, Dicke 2 mm) wurden ohne weitere Behandlung untersucht wie von Biorthex erhalten.

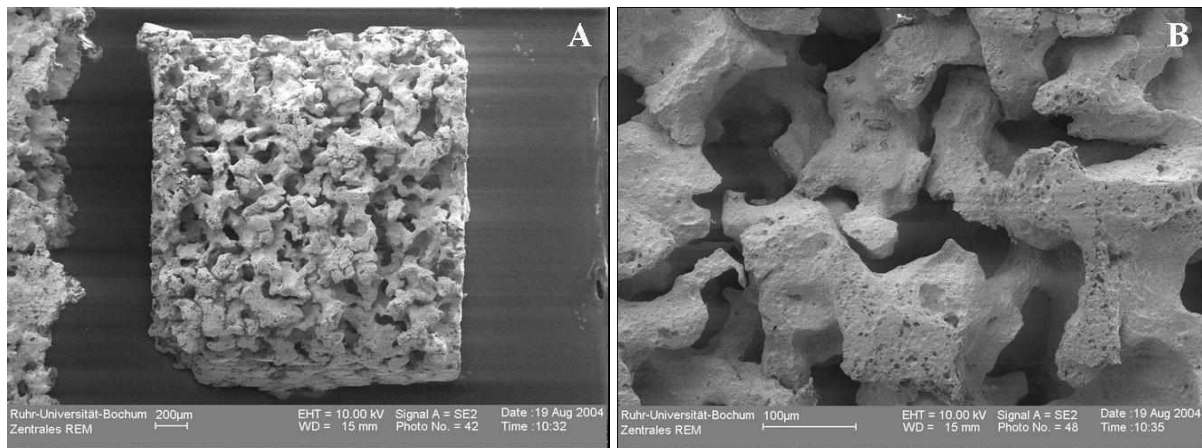
Neben denen von Biorthex Inc. durchgeführten Untersuchungen (siehe Kapitel 1.7.2) wurden im Rahmen dieser Arbeit weitere Eigenschaften von Actipore<sup>®</sup> untersucht, wie Zusammensetzung, Morphologie und mechanische Eigenschaften.

### 2.4.1 Untersuchungen mittels REM und EDX

Für die REM-Analyse war es nicht nötig, die Proben mit Gold zu besputtern, da die metallische Oberfläche eine ausreichende Leitfähigkeit besaß.

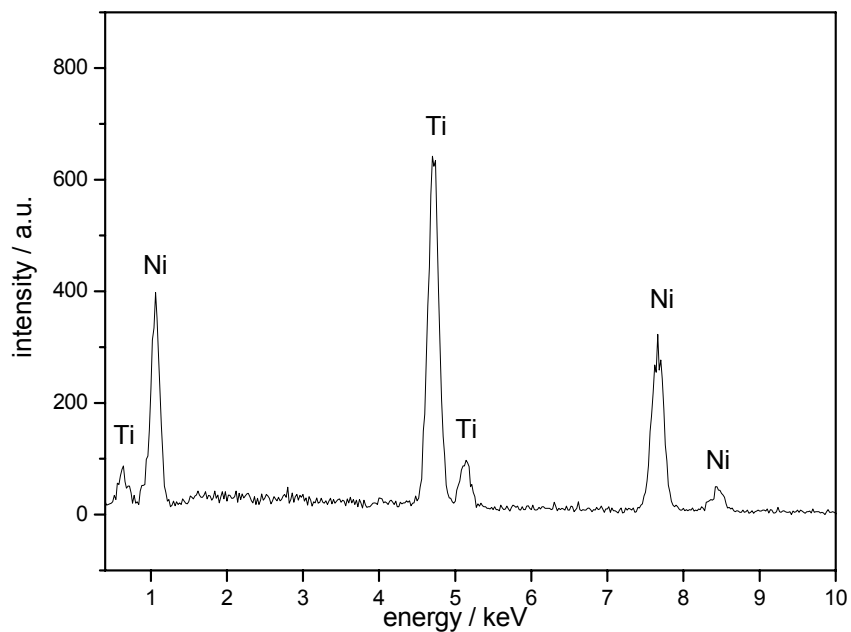
Die schon augenscheinlich sichtbare poröse Struktur war auf REM-Aufnahmen (siehe Abb. 2.4.1.1) noch deutlicher zu erkennen. Die Porosität war hoch und die durchschnittliche Porengröße betrug 100-200 µm. Schon durch die Aufnahmen der Oberfläche war zu erkennen, dass zwischen den Poren Interkonnektivität bestand, dass die Proben also in Verbindung zueinander standen.

Es waren keine Eduktreste zu beobachten, die Ausgangspulver waren offenbar komplett abreagiert und die Probe besaß eine homogene Oberflächenstruktur.



**Abbildung 2.4.1.1** REM-Aufnahmen von porösem NiTi zeigen deutliche die Porosität

Die EDX-Analyse (siehe Abb. 2.4.1.2) zeigte, dass es sich bei der untersuchten Probe ausschließlich um ein Gemisch von Nickel und Titan handelte.



**Abbildung 2.4.1.2** Die EDX-Analyse des porösen NiTi zeigt nur Ni und Ti

## 2.4.2 Mikrotomographische Untersuchungen

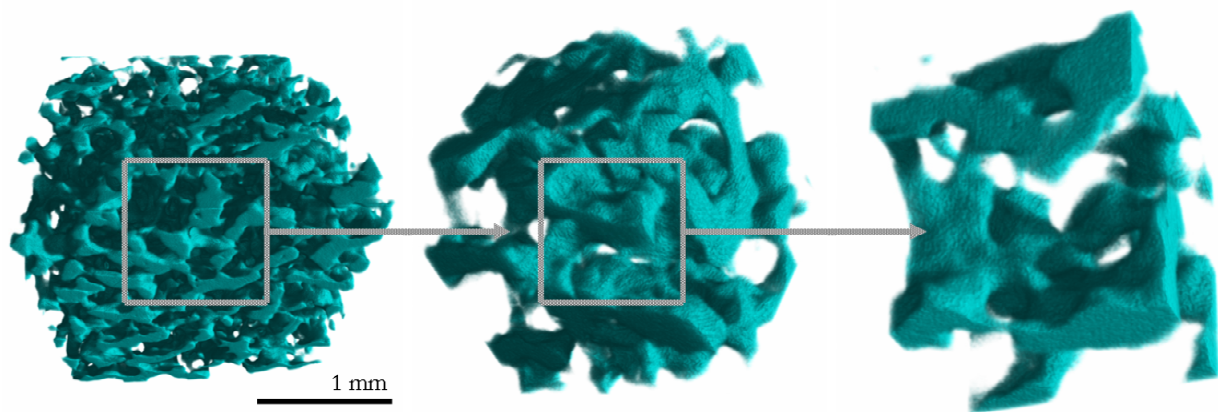
Mikrotomographie ist eine Untersuchungsmethode, die 3-dimensionale Aufnahmen von kleinen Strukturen ermöglicht (zur Methode siehe Kapitel 3.5).

Am HASYLAB DESY (Beamline W2) wurde eine Probe des porösen NiTi-Materials mit den Abmessungen  $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$  (siehe Abb. 2.4.1.1 links), die aus dem gegebenen Implantat ausgeschnitten wurde, untersucht. Die Untersuchung einer kompletten Scheibe (bis zu 10 mm groß) war aufgrund der hohen Absorption des Materials nicht möglich. Für die Untersuchung wurde die maximale Energie des Strahls von 54 keV verwendet. Die rekonstruierten Daten wurden mit dem Programm *VG Studio MAX 1.2* ausgewertet.

Mit Hilfe der hohen Auflösung von einigen Mikrometern pro Voxelkante konnte die schon auf REM-Aufnahmen teilweise sichtbare Interkonnektivität in dreidimensionalen Bildern dargestellt werden (siehe Abb. 2.4.2.1). Darüber hinaus war es am Rechner möglich Schnitte durch die dargestellte Struktur auszuführen, so dass auch die Konnektivität und Porengröße im Innern der Probe geprüft werden konnten.

Die Analysen zeigten, dass die Porenverteilung regelmäßigen Charakter hatte und sich die Größe der Poren an der Oberfläche und im Zentrum der Probe kaum unterschieden. Dies spricht für eine große Homogenität der Probe, was für die mechanische Belastbarkeit auch sehr wichtig ist, da diese durch Fehlstellen stark herabgesetzt würde.

Auch die durchgängige Interkonnektivität der Poren, die für das Einwachsen der Knochensubstanz wichtig ist, kann auf den unten stehenden Aufnahmen erkannt werden.



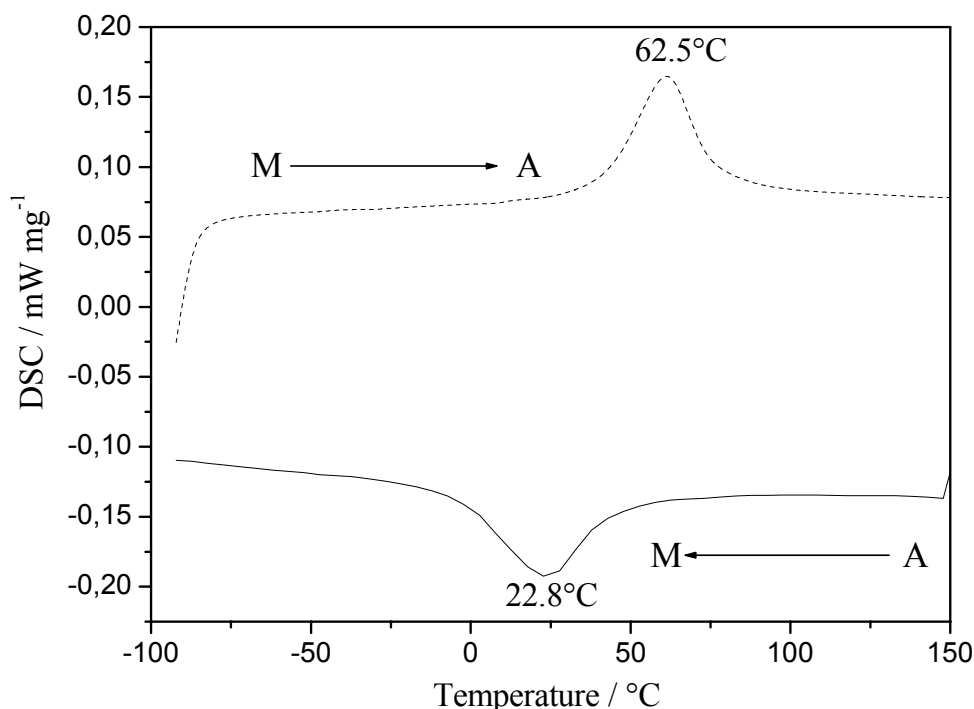
**Abbildung 2.4.2.1** Mikrotomographische Aufnahmen des porösen NiTi mit steigender Vergrößerung (Skala nur für linkes Bild gültig) zeigen Interkonnektivität der Poren

### 2.4.3 DSC- und XRD-Analyse

Zur Bestimmung der Phasenumwandlungstemperatur der porösen NiTi-Probe wurden DSC-Messungen ausgeführt (siehe Abb. 2.4.3.1). Das typische Probengewicht war 65 mg.

Die Analyse zeigte, dass beim Erhitzen mit  $+10 \text{ K min}^{-1}$  die Phasenumwandlung von Martensit zu Austenit bei  $62.5 \text{ °C}$  lag (Austenit-Peak). Die Phasenumwandlung von Austenit zu Martensit lag beim Abkühlen mit  $-10 \text{ K min}^{-1}$  bei  $22.8 \text{ °C}$  (Martensit-Peak). Das Auftreten der rhombischen R-Phase wurde nicht beobachtet.

Die thermische Analyse zeigt, dass bei Raumtemperatur beide Phasen auftreten können.



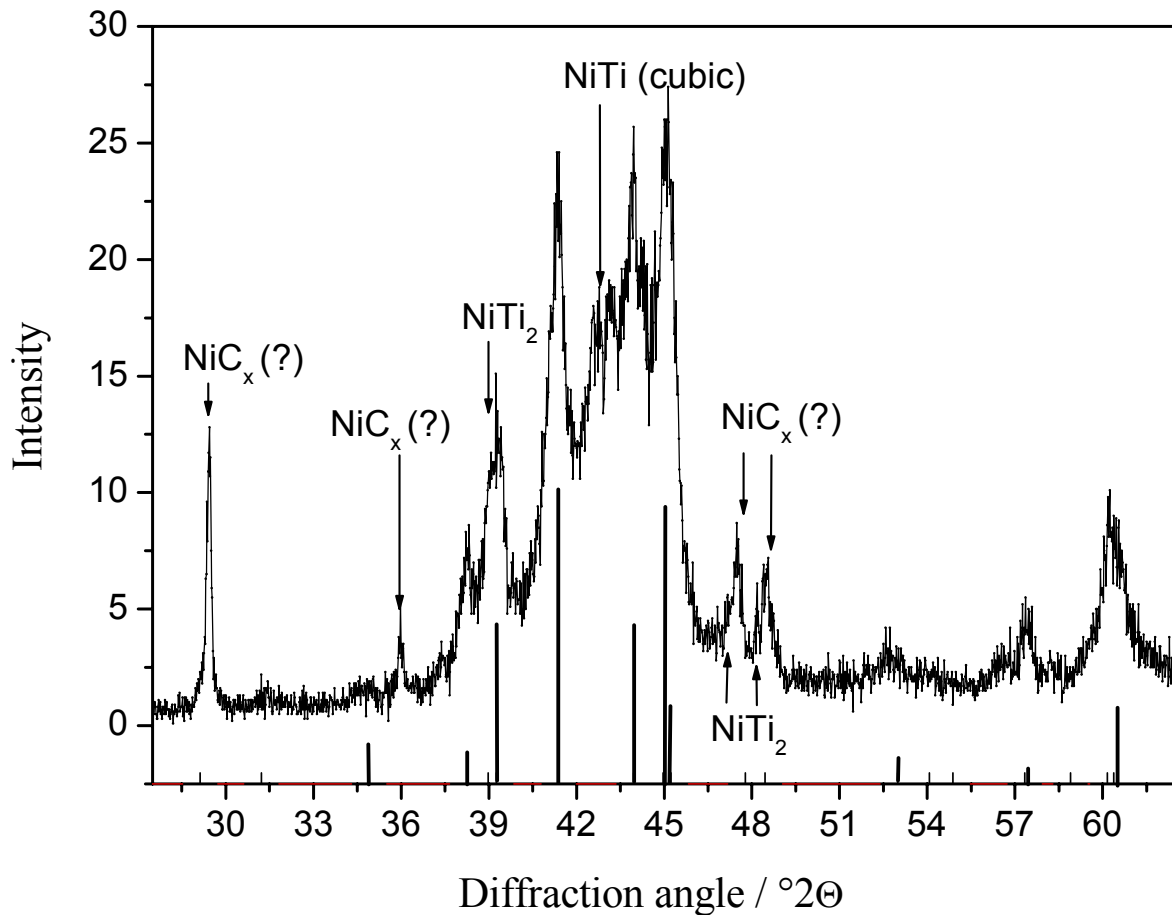
**Abbildung 2.4.3.1:** DSC-Kurve von porösem NiTi; Aufheizen: gepunktete Linie mit Austenit-Peak ( $62.5 \text{ °C}$ ); Abkühlen: durchgezogene Linie mit Martensit-Peak ( $22.8$ )

Die kristallographische Zusammensetzung der Probe wurde mittels XRD bestimmt (siehe Abb. 2.4.3.2).

Da Pulverdiffraktometrie an dem stark absorbierenden Material nicht möglich war, wurden Reflektionsmessungen durchgeführt. Dafür war es notwendig, die Probe zu einer flachen Scheibe zu pressen, da die unregelmäßige Oberfläche die Strahlen zu sehr gestreut hätte, so dass es zu keiner konstruktiven Interferenz gekommen wäre.

Wie in Kapitel 1.7.2 erwähnt, besteht die Möglichkeit, dass bei der Herstellung des Actipore<sup>®</sup> außer der Hauptphase NiTi noch Nebenphasen wie NiTi<sub>2</sub> entstehen.

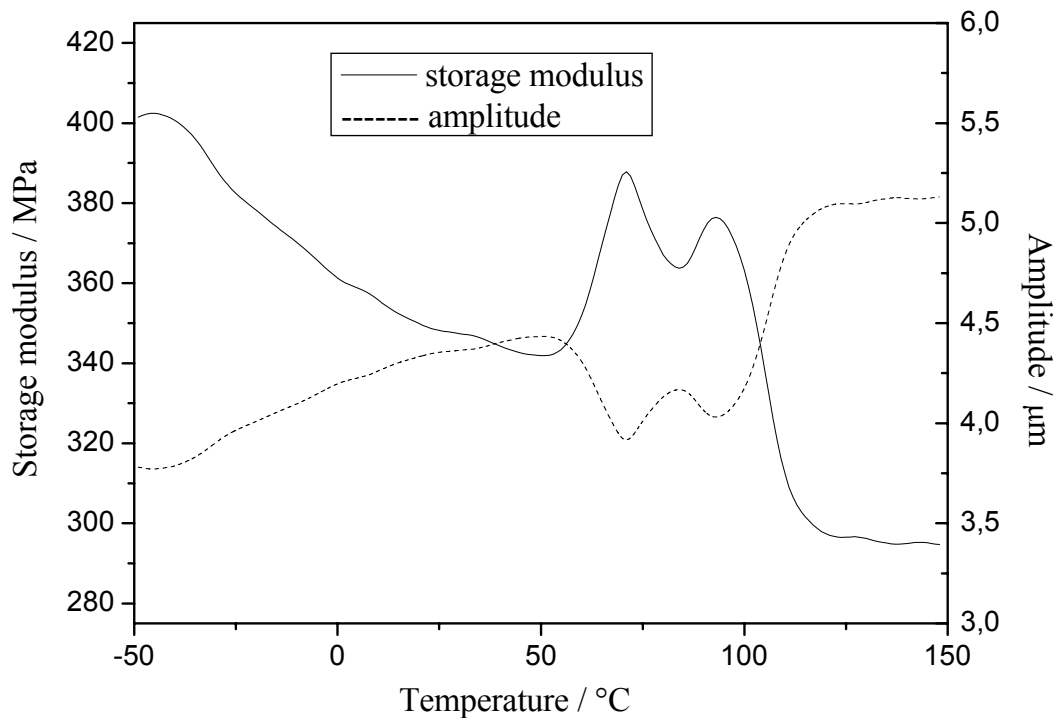
Wie auf dem Diffraktogramm (Abb. 2.4.3.2) zu erkennen ist, besteht die Probe hauptsächlich aus der monoklinen Martensit-Phase (B19-Phase). Daneben ist auch die kubische Austenit-Phase (B2-Phase: Zellparameter  $a=2.998 \text{ Å}$ ) zu erkennen, was der vorigen DSC-Messung entspricht. Außerdem wurden kleine Anteile von der erwarteten Nebenphase NiTi<sub>2</sub> und möglicherweise NiC<sub>x</sub> gefunden, dessen Herkunft nicht erklärt werden kann.



**Abbildung 2.4.3.2:** XRD-Analyse von gepresstem porösem NiTi; vertikale Linien gehören zu monoklinem NiTi mit den Zellparametern  $a=2.885$ ,  $b=4.622$ ,  $c=4.120$  Å,  $\beta=96.8^\circ$ ; andere Phasen sind über den jeweiligen Peaks bezeichnet

#### 2.4.4 DMA-Analyse

Um zu erklären, ob eine Änderung des Elastizitätsmoduls bei verschiedenen Temperaturen auftritt, wurde eine temperaturlöste DMA-Messung an einer porösen NiTi-Tablette (Dicke 2 mm; Durchmesser 7 mm) durchgeführt (siehe Abb. 2.4.4.1). Dafür wurde die Probe auf eine Plattform im Probenhalter gelegt und mit der Eindring Spitze des kreisförmigen Fühlstempels (Durchmesser 3 mm) im Temperaturbereich von  $-50$  bis  $150$  °C (Heizrate:  $1$  K  $\text{min}^{-1}$ ) mit einer Frequenz von  $5$  Hz und einer oszillierenden Kraft von  $2.3$ - $11.6$  N belastet. Für die Messung war es notwendig, dass die Probe ständig unter Belastung stand, da sie sich bei einer Entlastung hätte verschieben können.



**Abbildung 2.4.4.1:** Die DMA-Kurve zeigt Änderung des Elastizitätsmodul im Bereich zwischen 60 und 80 °C aufgrund der auftretenden Phasenumwandlung

Die Messung zeigte deutlich die erwartete Änderung während der Phasenumwandlung von Martensit zu Austenit im Bereich 60-80 °C, die der DSC-Messung (siehe Abb. 2.4.3.1) entspricht.

Ebenfalls zu sehen war, dass der Elastizitätsmodul der porösen Probe bei Raumtemperatur 350 MPa betrug, was in der Größenordnung des Elastizitätsmoduls des spongiösen Knochens (*human vertebral trabecular bone*: 60-80 MPa) liegt<sup>[271]</sup>. Kim et al. fanden bei ähnlichen porösen NiTi-Proben bei Raumtemperatur vergleichbare Werte von 120-200 MPa<sup>[272]</sup>. Nichtporöses kompaktes NiTi (z. B. orthodontische Drähte) hat den wesentlich höheren Elastizitätsmodul von 30-38 GPa<sup>[273, 274]</sup>.

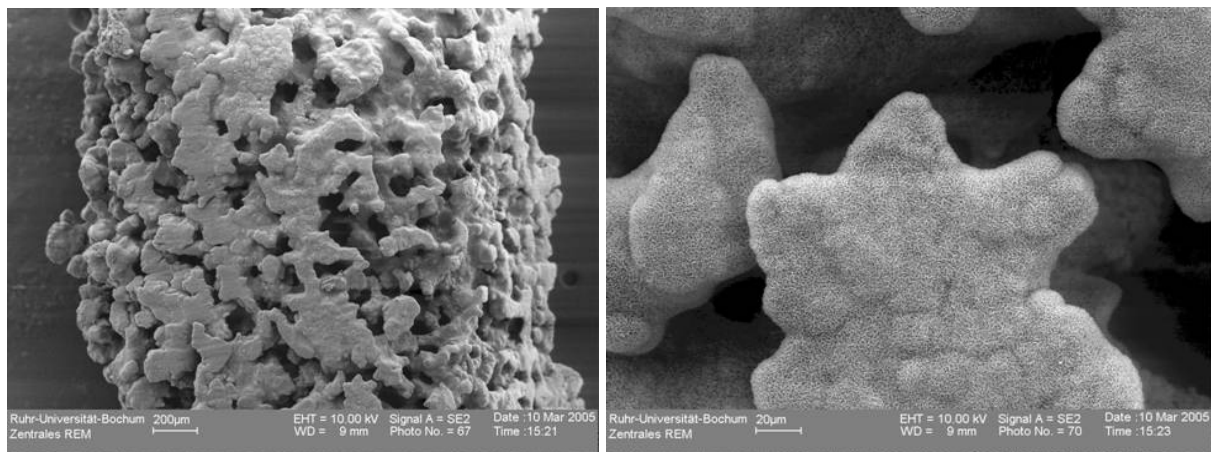
## 2.4.5 Calciumphosphatbeschichtung von porösen Proben

Zur Erzeugung der osteoinduktiven Eigenschaften von porösem NiTi wurde versucht, dieses nach dem Standardverfahren (siehe Kapitel 2.1.1) aus Calciumphosphatlösung mit Hydroxylapatit zu beschichten. Wie zuvor beschrieben ist dies mit kompakten NiTi-Proben problemlos möglich, allerdings wären dazu auch andere Methoden wie das Plasma-Spray-Verfahren geeignet. Der Vorteil des *dip-coating* Verfahrens besteht darin, dass durch

Auskristallisation aus der Lösung auch die innere Oberfläche der Probe beschichtet werden kann, weil sowohl Ätz- als auch Kristallisationslösung durch Kapillarkräfte in die Poren eindringen kann.

Zu diesem Zweck wurde ein kleines (ca.  $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ ) Probenstück chemisch bearbeitet und mehrfach mit destilliertem Wasser gespült, um die Ätzlösung aus den Poren zu entfernen. Die poröse Probe wurde für 24 h bei pH 7.0 in eine  $[\text{Ca}^{2+}]:[\text{PO}_4^{3-}] = 3:2 \text{ mM}$  Lösung getaucht.

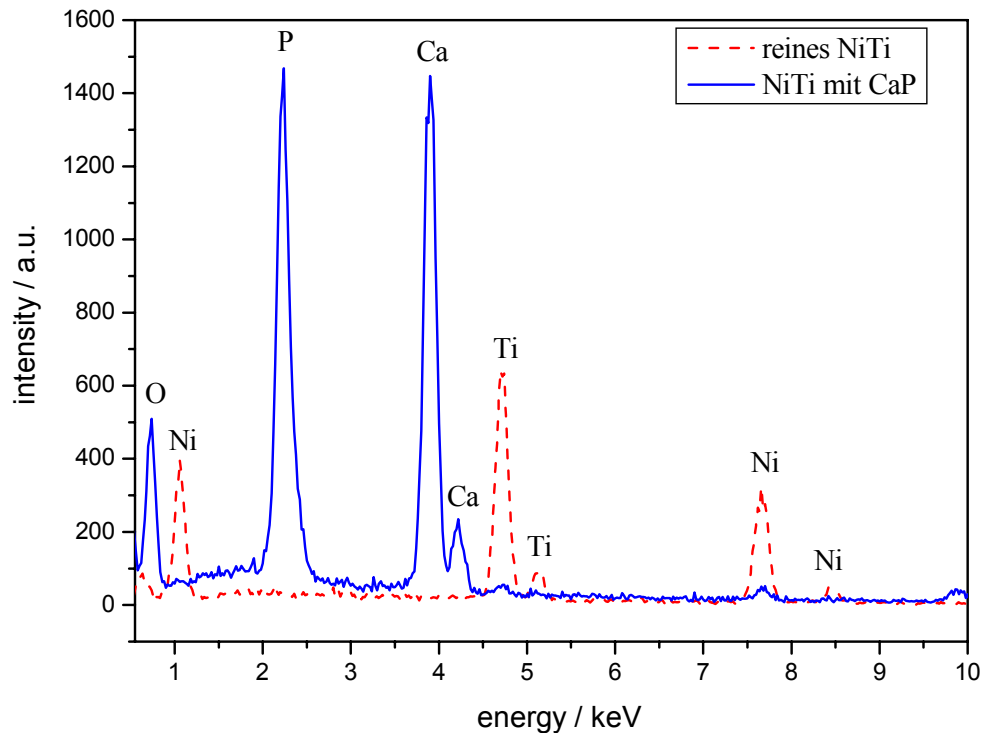
Nach dem Abspülen und Trocknen zeigte sich, dass tatsächlich eine helle Beschichtung entstanden war, die bei REM-Untersuchungen die typische plättchenförmige Hydroxylapatit-Morphologie besaß (siehe Abb. 2.4.5.1). Es war zu erkennen, dass die Beschichtung die recht komplizierte dreidimensionale Oberflächenstruktur der porösen Probe komplett bedeckte. In die Poren konnte mittels REM-Analyse allerdings nicht sehr tief hineingeschaut werden, weshalb keine Aussage darüber getroffen werden kann, ob die Beschichtung sich weit nach innen fortsetzt.



**Abbildung 2.4.5.1** REM-Aufnahmen porösem NiTi mit HAP nach dem *dip-coating*-Verfahren beschichtet; Beispiel zur Möglichkeit der Beschichtung von Körpern mit komplizierten Geometrien

In der EDX-Analyse (siehe Abb. 2.4.5.2) waren nur sehr geringe Peaks der metallischen Oberfläche sichtbar, wohingegen die üblichen Calciumphosphatpeaks (Ca, P, O) gefunden wurden, was für eine relativ dicke HAP-Beschichtung der Oberfläche spricht.





**Abbildung 2.4.5.2** EDX-Analyse von unbeschichtetem porösen NiTi (gepunktete Linie) und von mit HAP nach dem *dip-coating*-Verfahren beschichtetem porösen NiTi (durchgezogene Linie); die Beschichtung bedeckt die Oberfläche gut, Ni- und Ti-Peaks verschwinden

## 2.4.6 Zusammenfassung

1. Die gelieferten porösen Nitinol<sup>®</sup>-Proben besitzen nach XRD-Messungen außer der monoklinen Hauptphase auch Nebenphasen wie NiTi<sub>2</sub>.
2. Mikrotomographische und REM-Untersuchungen zeigen Interkonnektivität und für das Knocheneinwachsen ausreichende Größe der Poren.
3. Die Proben lassen sich nach dem *dip-coating*-Verfahren mit HAP beschichten.

## 2.5 Untersuchungen von NiTi-Fußklammern

Der Einsatz des NiTi für die Anwendung bei Fußklammern liegt in seinem Formgedächtniseffekt (siehe Kapitel 1.6.4) begründet, wohingegen bei anderen Anwendungen wie orthodontischen Drähten die Superelastizität der entscheidende Faktor ist.

Es wurden Prototypen von Fußklammern (siehe Abb. 2.5.1 rechts) nach dem in Kapitel 1.7.1 beschriebenen MIM-Verfahren hergestellt, da die heutzutage verwendeten Fußklammern nach relativ komplizierten Methoden angefertigt werden.

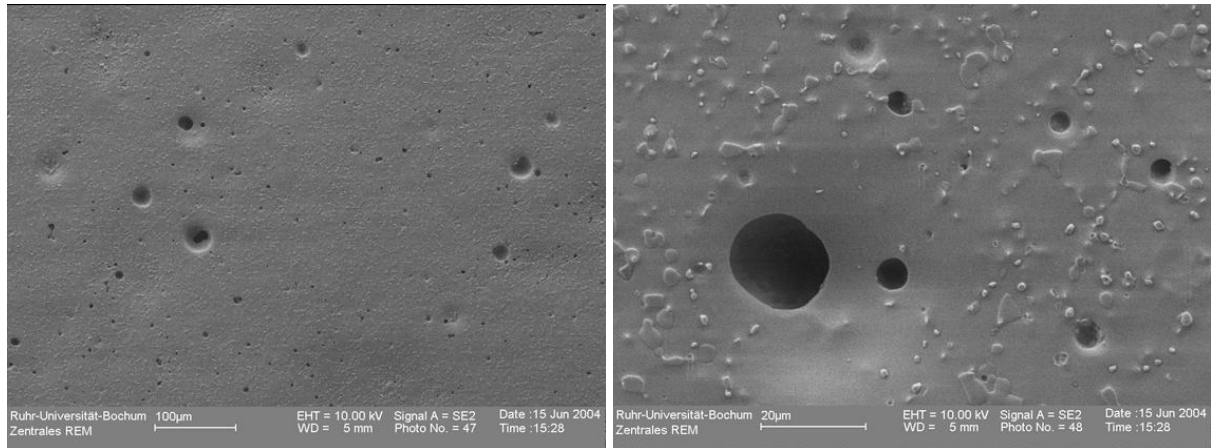
Diese Prototypen wurden nach mechanischen, chemischen und biologischen Methoden untersucht, um die Verwendbarkeit für den klinischen Einsatz zu überprüfen. Da es sich bei den vielen durchgeführten Tests um eine Gemeinschaftsarbeit handelte, werden hier die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen nur kurz vorgestellt und lediglich die eigenen Arbeit vollständig beschrieben.



**Abbildung 2.5.1:** links: Halterung der kommerziellen Fußklammer und durch *dip-coating* beschichtete Fußklammer; rechts: selbst nach MIM-Prozess hergestellte Prototypen; Fußklammern und gerade Stücke

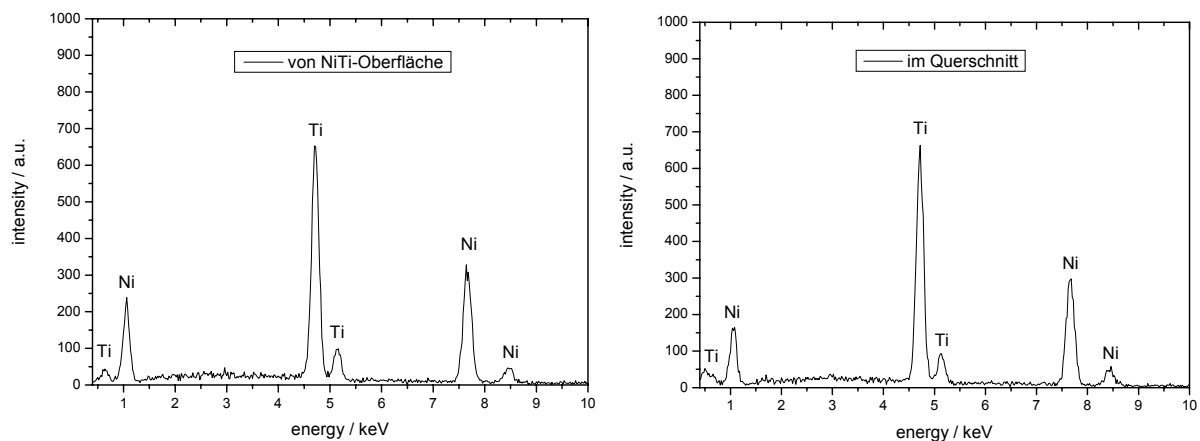
### 2.5.1 Untersuchung mittels REM und EDX

REM-Analysen (siehe Abb. 2.5.1.1) zeigten, dass die Oberfläche der Probe eine geringe Restporosität besaß. Die wenigen Poren (Durchmesser bis 20 µm) waren nicht untereinander verbunden.



**Abbildung 2.5.1.1** REM-Aufnahmen der Fußklammer-Prototypen; geringe Restporosität erkennbar

Die EDX-Analysen (siehe Abb. 2.5.1.2) von verschiedenen Stellen des Querschnitts der Klammer und der Oberfläche unterschieden sich nicht, es wurden nur Ni und Ti in identischen Verhältnissen gefunden.



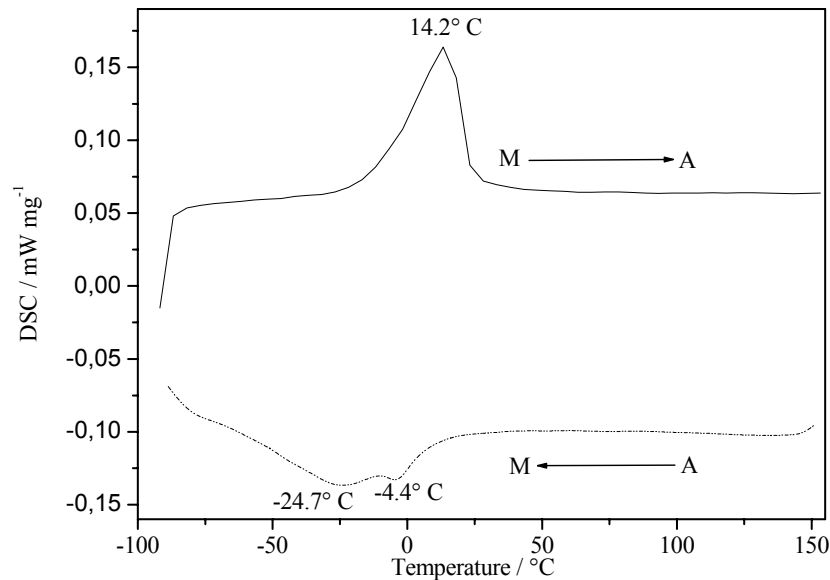
**Abbildung 2.5.1.2:** EDX-Analysen von Oberfläche und Querschnitt der Fußklammer-Prototypen; keine signifikanten Unterschiede erkennbar

## 2.5.2 DSC- und DMA-Analysen

Für DMA-Untersuchung wurden gerade Proben (siehe Abb. 2.5.1 rechts) mit einer Länge von ca. 43 mm hergestellt, da die Originalgeometrie nicht in der DMA-Anlage belastet werden konnten.

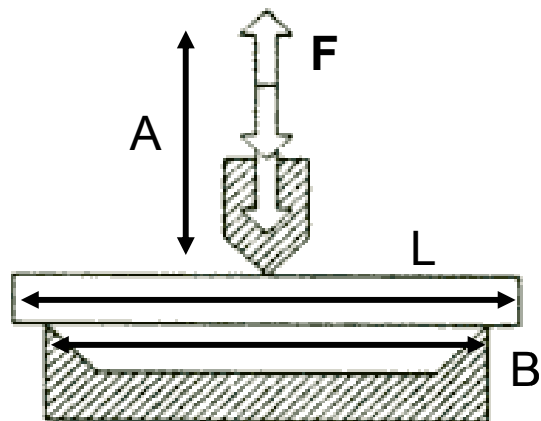
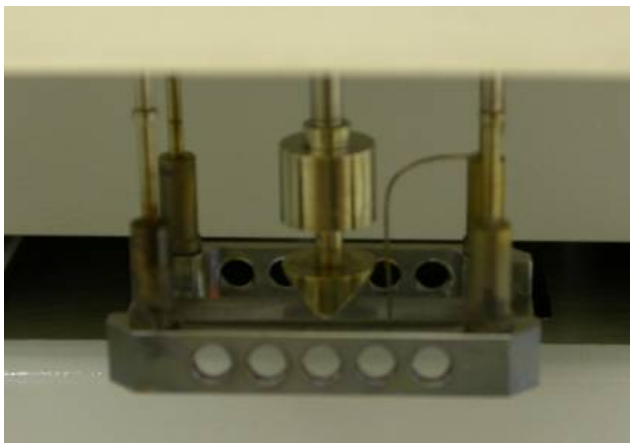
Mit einem Stück einer dieser Proben mit der Masse von 40.1 mg wurde auch die DSC-Messung durchgeführt (siehe Abb. 2.5.2.1). Dort zeigte sich, dass die Phasenumwandlung von

Austenit zu Martensit beim Kühlen (Kühlrate:  $-10 \text{ K min}^{-1}$ ) die R-Phase durchläuft. Der Martensit-Peak wurde bei  $-24.7^\circ \text{C}$  gefunden und der Peak der R-Phase bei  $-4.4^\circ \text{C}$ . Die beim Aufheizen (Heizrate:  $+10 \text{ K min}^{-1}$ ) auftretende Phasenumwandlung (Austenit-Peak) fand bei  $+14.2^\circ \text{C}$  statt.



**Abbildung 2.5.2.1** DSC-Kurve des Fussklammer-Prototyps; Aufheizen: durchgezogene Linie mit Austenit-Peak ( $14.2^\circ \text{C}$ ); Abkühlen: gepunktete Linie mit Martensit-Peak ( $-24.7^\circ \text{C}$ ) und Peak der R-Phase ( $-4.4^\circ \text{C}$ )

Um zu klären, ob eine Änderung des Elastizitätsmoduls bei verschiedenen Temperaturen auftritt, wurde eine temperaturlöste DMA-Messung an einer geraden Probe durchgeführt. Für den Versuch wurde die Methode der Drei-Punkt-Biegung gewählt (siehe Abb. 2.5.2.2).



**Abbildung 2.5.2.2** Gerade Fußklammer in der DMA-Apparatur und Schema des Drei-Punkt-Biegeversuchs

Die Enden der Probe werden auf zwei Schneiden gelagert und die liegende Probe von oben von der Schneide des Stempels mit einer oszillierenden Kraft belastet. Die Probe muss dabei immer unter Belastung stehen. Ihre Länge betrug 43 mm, da die Arbeitslänge des Geräts  $B$  eine Mindestlänge von 40 mm vorschrieb, ihre Breite und Höhe betrug 2 bzw. 2.5 mm. Die unten dargestellten Werte des komplexen Elastizitätsmoduls wurden nach der folgenden Gleichung berechnet:

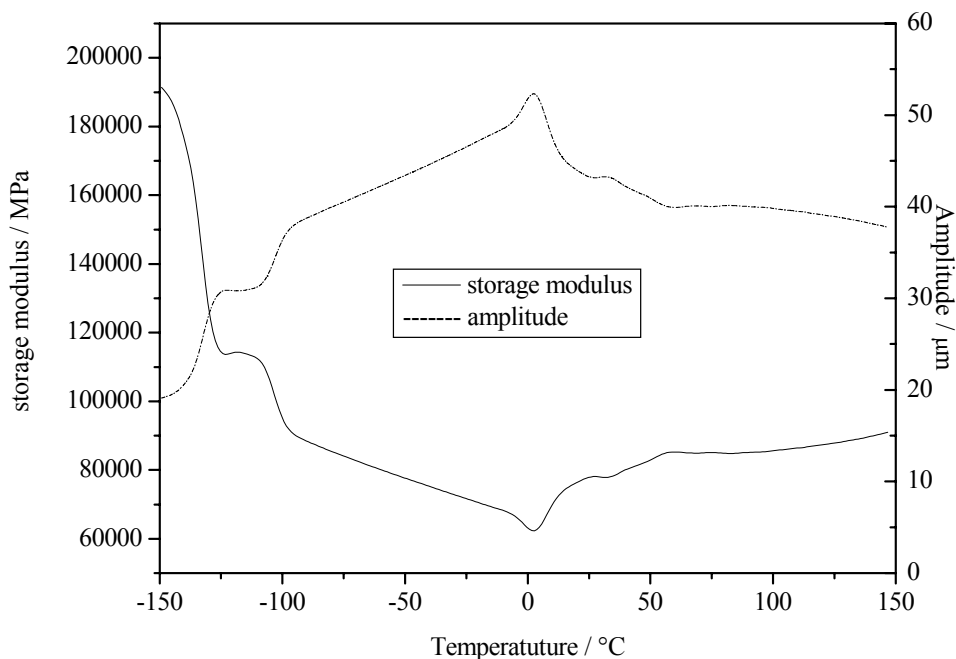
$$E = B^3 / (4bh^3) \times F/A$$

mit:  $B$  Arbeitslänge,  $b$  Probenbreite,  $h$  Probenhöhe,  $F$  Kraft,  $A$  Amplitude.

Die Probe wurde an der Luft mit einer statischen Kraft von 6.4 N und einer dynamischen Kraft von 4.5 N bei einer Frequenz von 5 Hz belastet. Dabei wurde die Temperatur kontinuierlich mit einer Heizrate von  $+1 \text{ K min}^{-1}$  von  $-150$  bis  $+150 \text{ °C}$  erhöht.

Die Messung zeigt schwache Änderungen des E-Moduls in zwei Temperaturbereichen (siehe Abb. 2.5.2.3): im Bereich von  $-130$  bis  $-100 \text{ °C}$ , was für die medizinische Anwendung ohne Bedeutung ist, und im Bereich von  $-20$  bis  $20 \text{ °C}$ , in dem die Phasenumwandlungen stattfinden. Dort kommt es also zu einer Änderung der mechanischen Eigenschaften.

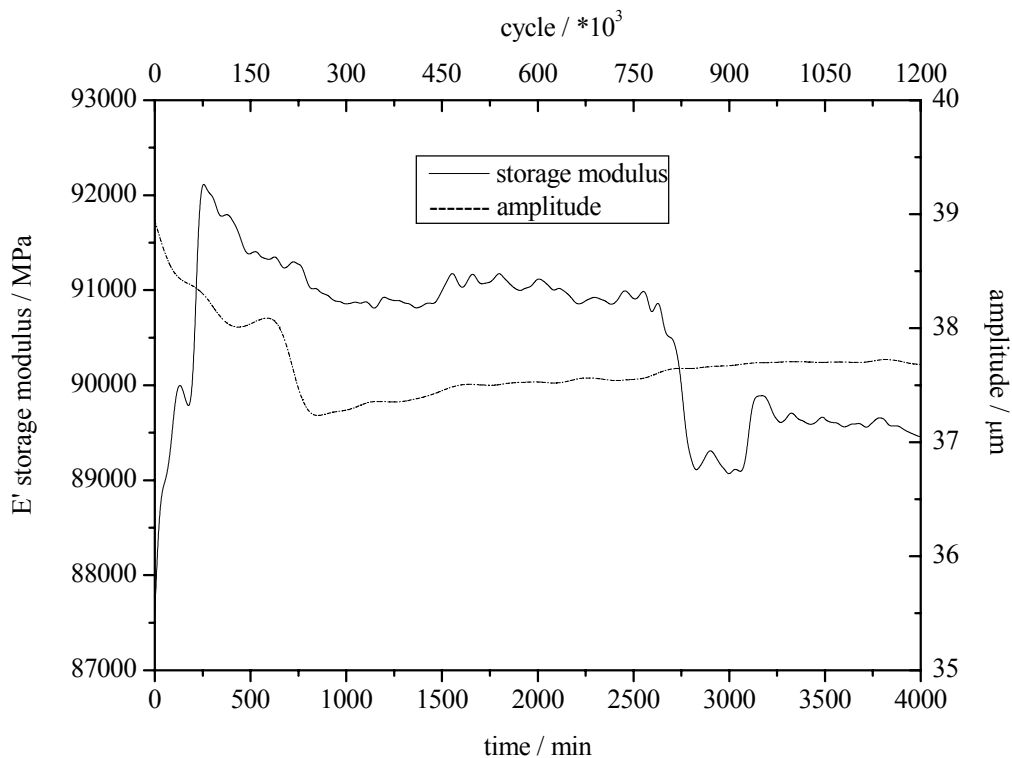
Die Ergebnisse der DSC-Messung (Abb. 2.5.2.1) und temperaturlösten DMA-Messungen (Abb. 2.5.2.3) zeigen, dass die Phasenumwandlungen zwischen  $-20 \text{ °C}$  und Raumtemperatur liegen, was für die Funktionalität des Implantats von großer Bedeutung ist. Lagen die Umwandlungen in einem breiteren Temperaturbereich, so würde der Formgedächtniseffekt im menschlichen Körper nicht auftreten.



**Abbildung 2.5.2.3:** Die Temperaturlöste DMA-Messung zeigt Änderung des Elastizitätsmoduls zwischen  $-20 \text{ °C}$  und Raumtemperatur

Des Weiteren wurden mittels DMA Ermüdungstests unter isothermen (37 °C) Bedingungen durchgeführt. Es wurde erneut das Prinzip der Drei-Punkt-Biegung mit einer statischen Kraft von 6.5 N, der dynamischen Kraft von 4.5 N, der Frequenz von 5 Hz und der vorgegebenen Amplitude von 240 µm gewählt. Es wurden Versuche an der Luft und in 150 mM NaCl-Lösung durchgeführt.

Die DMA-Untersuchung (siehe Abb. 2.5.2.4) bei maximaler Belastungskraft des Geräts zeigte, dass es auch nach  $1.2 \cdot 10^6$  Zyklen bzw. 4000 min keinen Bruch gab (an der Luft sowie in 150 mM NaCl-Lösung). Wegen der großen Stabilität der Probe konnte die DMA-Anlage nur eine Auslenkung von ca. 40 µm erreichen. Der E-Modul betrug etwa 90 GPa.



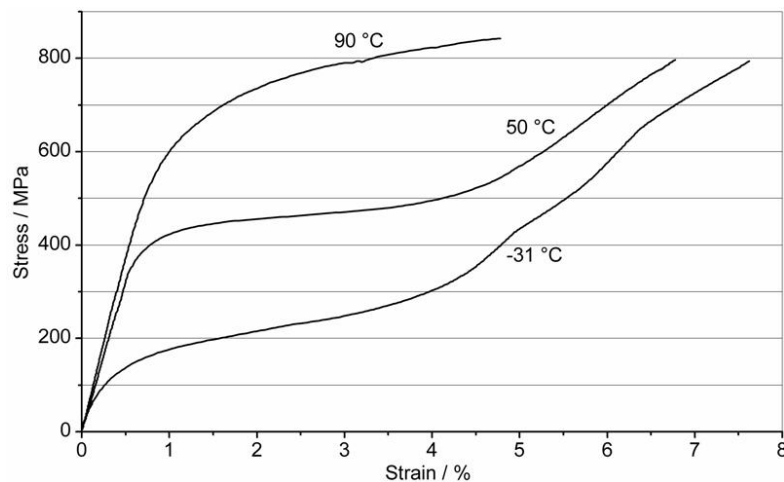
**Abbildung 2.5.2.4:** DMA-Ermüdungstests nach dem Prinzip der Drei-Punkt-Biegung mit  $1.2 \cdot 10^6$  Zyklen in 150 mM NaCl-Lösung: Keine Ermüdungseffekte wie Erweichung oder Bruch sichtbar

### 2.5.3 Ergebnisse der Kooperationspartner

Ergänzend zu den eigenen Tests wurden weitere Untersuchungen zur näheren Charakterisierung der Eigenschaften des Implantat-Prototyps von den Kooperationspartnern (Forschungszentrum Jülich) durchgeführt.

EDX- und WDX-Untersuchungen ergaben, dass die Probe aus der Hauptphase NiTi und den Nebenphasen  $Ti_4Ni_2O$  und TiC, sowie aus kleinen Anteilen an gelöstem  $N_2$  und  $O_2$  bestand.

Es wurden Belastungs-Dehnungs-Tests bei verschiedenen Temperaturen (-31, 50, 90 °C) durchgeführt (siehe Abb. 2.5.3.1). Bei der tiefsten Temperatur lag nur Martensit, bei der höchsten nur Austenit und bei der mittleren belastungsinduzierter Martensit vor. Es wurde gezeigt, dass die Plateaus der drei Dehnungskurven auf verschiedenen Belastungsniveaus aber alle im Bereich bis 4 % liegen. Das bedeutet, dass die Probe weiter als viele andere Metalle plastisch verformbar ist und bei verschiedenen Temperaturen (Phasen) unterschiedliche Plateauniveaus besitzt. Diese Eigenschaften erklären den Einwegeffekt (siehe Kapitel 1.6.4)



**Abbildung 2.5.3.1** Dehnungskurven bei verschiedenen Temperaturen: -31 °C (reiner Martensit), 50 °C (belastungsinduzierter Martensit), 90 °C (reiner Austenit); Kurvenplateaus liegen auf verschiedenen Belastungsniveaus

Es wurde ebenfalls geprüft, wie viel Kraft eine im kalten Zustand (-50 °C) geöffnete Klammer beim Erwärmen bis zur Raumtemperatur auf einen Zirkoniumzylinder ausübte. Diese Kraft betrug 33 N, was wichtig für die Knochenfixierung ist.

Bei weiteren Belastungstests wurde festgestellt, dass auch lange belastete und zum Teil ermüdete Proben trotzdem noch gleiches mechanisches Verhalten zeigten.

Computersimulationen zum Ermüdungsverhalten zeigten die Phasenverteilung im Implantat unter Belastung und Entlastung im Knochen.

In biologischen Untersuchungen wurde eine gute Biokompatibilität in Kontakt mit menschlichen osteoblastähnlichen Zellen festgestellt.

Aufgrund der selbst gefundenen und von Kooperationspartnern erhaltenen Ergebnisse kann zusammenfassend gesagt werden, dass die mittels der komfortablen MIM-Methode hergestellten Prototypen von NiTi-Fußklammern für den medizinischen Einsatz gut geeignet erscheinen.

## 2.6 Untersuchung von orthodontischen Drähten

Obwohl die mechanischen Eigenschaften von orthodontischen Drähten auf NiTi-Basis schon ausgiebig untersucht wurden, sind nur wenig Informationen betreffend der Langzeitermüdung unter dynamischer Belastung und Implantationsbedingungen verfügbar<sup>[275]</sup>. Da die Drähte ca. 1-2 Monate im Mund bleiben, stehen sie unter einer kleinen aber dauerhaften Belastung (Kauen) unter relativ korrosiven Bedingungen (Speichel und Nahrung)<sup>[276]</sup>, wodurch es zu Brüchen kommen kann<sup>[277]</sup>. Bei einem Bruch muss der komplette Draht ausgewechselt und der neue Draht an die geänderten Zahnpositionen angepasst werden. Dazu besteht durch Brüche ein Verletzungsrisiko für das Weichgewebe im Mund und an der Bruchkante könnte es zur erhöhten Freisetzung des allergiefördernden Nickels kommen<sup>[278, 279]</sup>. Denn das Hauptproblem bei der Verwendung von Formgedächtnislegierungen ist ihr hoher Nickelgehalt und die damit verbundene Nickelfreisetzung aus der Oberfläche.

Nitinollegierungen passivieren zwar aufgrund ihres hohen Titananteils schnell durch eine Titandioxidschicht, allerdings ist noch nicht ausreichend bekannt, wie viel Nickel unter der täglichen Belastung eines orthodontischen Drahtes freigesetzt wird. Durch fortlaufende Verletzung der TiO<sub>2</sub>-Schicht aufgrund von Phasenumwandlung kann es zu erhöhter Nickelfreisetzung kommen.

Da Nickel schon bei geringen Konzentrationen (ca. 30 ppm) allergische Reaktionen auslösen kann<sup>[280]</sup>, wurden in dieser Arbeit verschiedene Untersuchungen zur Nickelfreisetzung aus NiTi durchgeführt.

Diese Untersuchungen befassten sich mit der Nickelfreisetzung mit und ohne Belastung aus verschiedenen orthodontischen Drähten auf NiTi-Basis in reinstem Wasser.

### 2.6.1 Verschiedene Drahtmaterialien

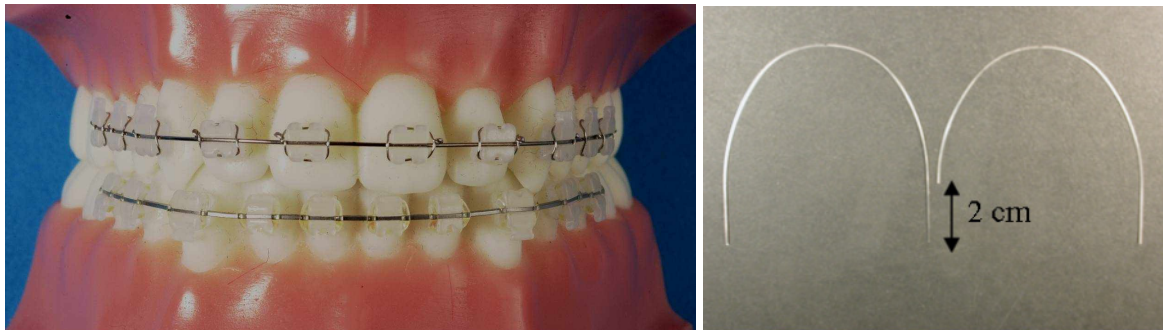
Verschiedene Arten von superelastischen orthodontischen Drähten wurden im Rahmen der durchgeführten Tests eingesetzt. Die Auswahl wurde von unserem Kooperationspartner Dr. A. Klocke vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf übernommen (Kieferorthopädie). Die verwendeten handelsüblichen NiTi-Drähte (siehe Tabelle 2.6.1.1) mit und ohne Kupferzusatz wurden von den Herstellern versiegelt geliefert und wären auch für den medizinischen Einsatz verwendbar gewesen. Zum Vergleich der mechanischen Eigenschaften wurde auch Draht aus rostfreiem Stahl untersucht.



Name	Legierung	Durchmesser (entspr. Firmangabe)	Hersteller	Abkürzung
Sentalloy®	NiTi	0.46 mm · 0.64 mm (0.018" · 0.025"), rechteckig	GAC	NiTi 18*25
Copper NiTi® 27°	NiTi (kupferhaltig)	0.46 mm (0.018"), rund	Ormco	CuNiTi 18
Copper NiTi® 27°	NiTi (kupferhaltig)	0.48 mm · 0.64 mm (0.019" · 0.025"), rechteckig	Ormco	CuNiTi 19*25
Copper NiTi® 35°	NiTi (kupferhaltig)	0.43 mm · 0.64 mm (0.017" · 0.025"), rechteckig	Ormco	CuNiTi 17*25
Stainless steel	rostfreier Stahl	0.43 mm · 0.64 mm (0.017" · 0.025"), rechteckig	Ormco	Steel

**Tabelle 2.6.1.1** In dieser Arbeit verwendete Drahttypen

Für die DMA- und Nickelfreisetzungsuntersuchungen wurden ca. 2 cm-lange, möglichst gerade Stücke von den Enden der Bogenformen (Einsatz im Dentalbereich) abgeschnitten (siehe Abb. 2.6.1.1 rechts). Die gebogenen Stücke wurden nicht verwendet, um die Einflüsse von Formabweichungen bei den Belastungsuntersuchungen zu vermeiden. Exakte Berechnungen zur Belastung benötigen genaue Angaben der Geometrie, deswegen wurden auch die geraden Stücke vor ihrem Einsatz mittels Mikrometerschrauben vermessen.

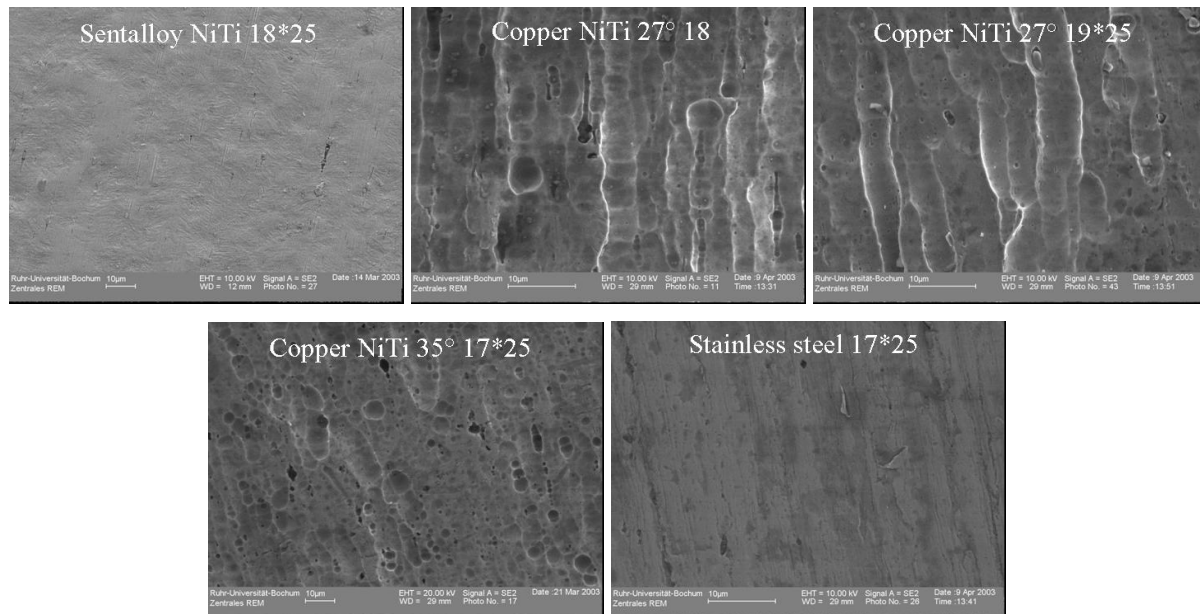


**Abbildung 2.6.1.1** links: NiTi-Draht im Einsatz, fixiert mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Keramik-Brackets; rechts: Demonstration eines Drahtbogens mit abgeschnittenem geradem Endstück

## 2.6.2 Vergleich mittels REM-, EDX- und DSC-Analyse

Mittels REM-Untersuchungen wurde überprüft (siehe Abb. 2.6.2.1), wie rau die verschiedenen orthodontischen Drähte waren, da die Oberflächenrauigkeit einen Einfluss auf die Bruchzeit in DMA-Versuchen haben kann. Dazu spielt die Rauigkeit für das Ansiedeln von Karies auslösenden Bakterien im Mund eine Rolle. Bei den Untersuchungen zeigte sich, dass nur Stahl und das reine NiTi eine sehr glatte Oberfläche hatten. Die CuNiTi-Drähte

hatten eine sichtbar rauere Oberflächenstruktur bestehend aus länglichen axialen Rillen, besonders der runde CuNiTi18-Draht, der die tiefsten Rillen zeigte.



**Abbildung 2.6.2.1** REM-Aufnahmen von allen Drähten vor der Belastung; die raue Oberfläche der kupferhaltigen Drähte ist gut zu erkennen

EDX-Analysen zeigten nur die für die jeweiligen Materialien typischen und erwarteten Peaks, also bei NiTi nur Ni und Ti, bei CuNiTi zusätzlich einen geringen Cu-Anteil und bei rostfreiem Stahl nur Fe mit Beimengungen von Ni.

DSC-Analysen waren notwendig (siehe Tabelle 2.6.2.1), um die Phasenumwandlungstemperaturen der Formgedächtnislegierungen zu finden, da diese in einem bestimmten Bereich liegen mussten, um für den medizinischen Einsatz von Nutzen zu sein. Die Stahldrähte wurden nicht mittels DSC untersucht, da Stahl keine Formgedächtnislegierung ist.

Es wurden Proben von je etwa 60 mg der NiTi- und CuNiTi-Drähte im Temperaturbereich von -150 °C bis +150 °C mit Aufheizraten von +5 und +10 K min<sup>-1</sup> bzw. mit Abkühlraten von -5 und -10 K min<sup>-1</sup> untersucht. Dabei wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der beiden Heiz- bzw. Abkühlraten festgestellt.

Bei allen Drähten lag der Austenit-Peak bei Raumtemperatur (16-29 °C), was bedeutet dass die Phasenumwandlung durch Belastung auch bei der physiologischen Temperatur von 37 °C erfolgen kann. Der Martensit-Peak lag bei NiTi bei -37 °C und bei den kupferhaltigen Drähten von -4 bis +4 °C.

Werte	Drahttypen				
	NiTi 18*25	CuNiTi 18	CuNiTi 19*25	CuNiTi 17*25	Stahl
T (R-Phase, Peak) / °C Abkühlrate -5 K min <sup>-1</sup>	+17.7	-	-	-	-
T (Martensitpeak) / °C Abkühlrate -5 K min <sup>-1</sup>	-37.0	-1.6	-4.6	+4.5	-
T (Austenitpeak) / °C Aufheizrate + 5 K min <sup>-1</sup>	+26.5	+21.5	+15.7	+29.0	-

**Tabelle 2.6.2.1** Phasenumwandlungstemperaturen der verschiedenen Drahttypen nach DSC-Messung; der Austenit-Peak liegt jeweils im Bereich der Raumtemperatur

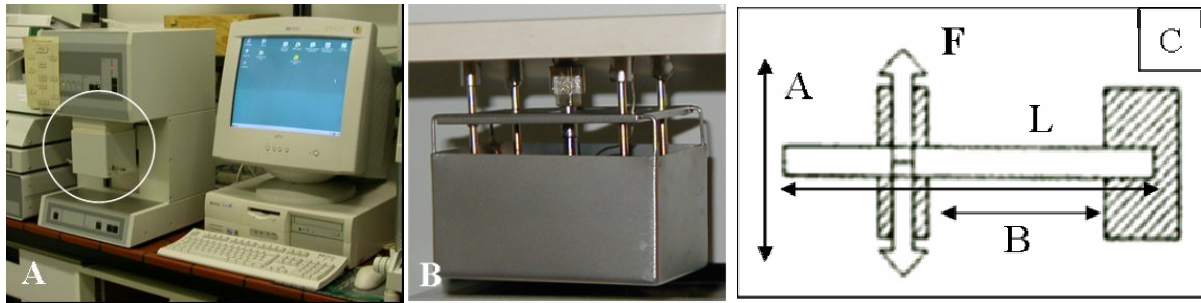
Es wurde auch gezeigt, dass nur bei reinem NiTi die Umwandlung von Austenit in Martensit über die R-Phase verläuft. Bei den kupferhaltigen Drähten wird diese Phase unterdrückt. Der Temperaturunterschied zwischen Martensit- und Austenit-Phase ist bei CuNiTi auch kleiner, dadurch ist die Hysterese ebenfalls kleiner.

Weitere DSC-Messungen ergaben, dass DMA-Messungen (siehe folgendes Kapitel) die Phasenumwandlungen der Drähte nicht änderten.

### 2.6.3 Ermüdungstests in verschiedenen Medien mittels DMA

Bei diesen Tests sollte vor allem herausgefunden werden, welche Drähte am längsten der mechanischen Belastung unter korrosiven Bedingungen standhalten, um eine Aussage darüber treffen zu können, welcher Draht aus Stabilitätsgründen am besten für Zahnspannen geeignet ist.

Nach Absprache mit Dr. A. Klocke wurden für die DMA-Messung (siehe Abb. 2.6.3.1 A) möglichst physiologische Parameter gewählt, um die Messwerte besser auf den tatsächlichen Einsatz übertragen zu können. Entsprechend dieser kieferorthopädischen Vorgabe wurde der Belastungsmodus der einarmigen Biegung ausgeführt (siehe Abb. 2.6.3.1 C), in dem ein Ende der Probe fest eingespannt war und die Belastung mit einem Stempel auf das freie Ende der Probe ausgeübt wurde. In eine die Belastungsapparatur umgebende Metallwanne (siehe Abb. 2.6.3.1 B) konnten verschiedene Flüssigkeiten eingefüllt werden, sodass die Belastung nicht nur an Luft durchgeführt werden konnte.



**Abbildung 2.6.3.1** A: DMA-Anlage (eingekreist: Ofen, mit dem die Wanne bei konstanter Temperatur gehalten wird); B: in den geöffneten Ofen eingesetzte Wanne; C: Schema der einarmigen Biegung

Vor der eigentlichen Messung musste eine Kalibration durchgeführt werden, da sich aufgrund der Viskosität von Flüssigkeiten der Stempel dort anders bewegt als in der Luft, und da die Messergebnisse so verfälscht worden wären.

Obwohl beim Essen und Trinken im Mund Temperaturen von 5 bis 55 °C auftreten können, wurde gezeigt dass die typische Temperatur zwischen 34 und 37 °C liegt<sup>[281]</sup>. Daher war es für unser möglichst physiologisches Modell nahe liegend, die DMA-Untersuchungen bei 37 °C mit den unten gezeigten Parametern durchzuführen.

Die Messbedingungen waren:

- Temperatur 37 °C isotherm (Körpertemperatur)
- Maximale Kraft 6 N (vergleichbar mit der beim Kauen auftretenden Kraft)
- Frequenz 5 Hz (doppelte Frequenz der Kaubewegung zur Messungsbeschleunigung)
- Maximale Amplitude  $A = \pm 240 \mu\text{m}$  (ähnliche Auslenkung wie im Mund)
- Biegelänge  $B = 5 \text{ mm}$  (mittlerer Abstand zwischen Brackets)
- Drahtlänge  $L = 20 \text{ mm}$  (ausreichend für Fixierung in DMA-Anlage)

Als Messlösungen wurden verwendet:

1. destilliertes Wasser
2. Kochsalzlösung (150 mM = physiologisch)
3. Zitronensäure (0.85 mM; pH 3.5)
4. künstlicher Speichel nach Fusayama-Meyer<sup>[275]</sup>:  $0.4 \text{ g L}^{-1} \text{ KCl}$ ,  $0.4 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$ ,  $0.906 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCl}_2 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $0.690 \text{ g L}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $0.005 \text{ g L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{ H}_2\text{O}$ ,  $1 \text{ g L}^{-1} \text{ Urea}$ ; pH 4.7
5. künstlicher Speichel mit Fluorid nach Angelini und Zucchi<sup>[282]</sup> und Rondelli und Vicentini<sup>[283]</sup>:  $1.47 \text{ g L}^{-1} \text{ KCl}$ ,  $1.25 \text{ g L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ ,  $0.52 \text{ g L}^{-1} \text{ KSCN}$ ,  $0.19 \text{ g L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $3.058 \text{ g L}^{-1} \text{ KF}$ ; pH 7.3

Als fluoridhaltiger Speichel wurde Lösung 5 gewählt, da bei einer KF-Zugabe zu Lösung 4  $\text{CaF}_2$  ausgefallen wäre.

Es wurden alle Drähte in allen Lösungen und an der Luft gemessen. Für jede Messung wurden 3-5 Drähte von verschiedenen Bögen verwendet, je nachdem, wie weit die Messwerte voneinander abwichen. Kein Draht wurde mehr als einmal eingesetzt. Die Flüssigkeitsmenge betrug jeweils 40 mL und die Messdauer richtete sich nach der Bruchzeit.

Es wurden mehrere Messgrößen erfasst. Diese waren der Elastizitätsmodul vor dem Bruch, die Zeit bis zum Bruch, die auftretende Kräfte und die Auslenkungen (siehe Tabelle 2.6.3.1, 2.6.3.2). Speichermodul  $E_{St}$  (*storage modulus*) und Verlustfaktor  $\tan(\delta)$  wurden automatisch berechnet (zur Theorie siehe Kapitel 3.6):

$$E = E_{St} + iE_{Los}$$

$$\tan(\delta) = E_{Los} / E_{St}$$

$$E_{St} = B^3 / bh^3 \cdot F / a$$

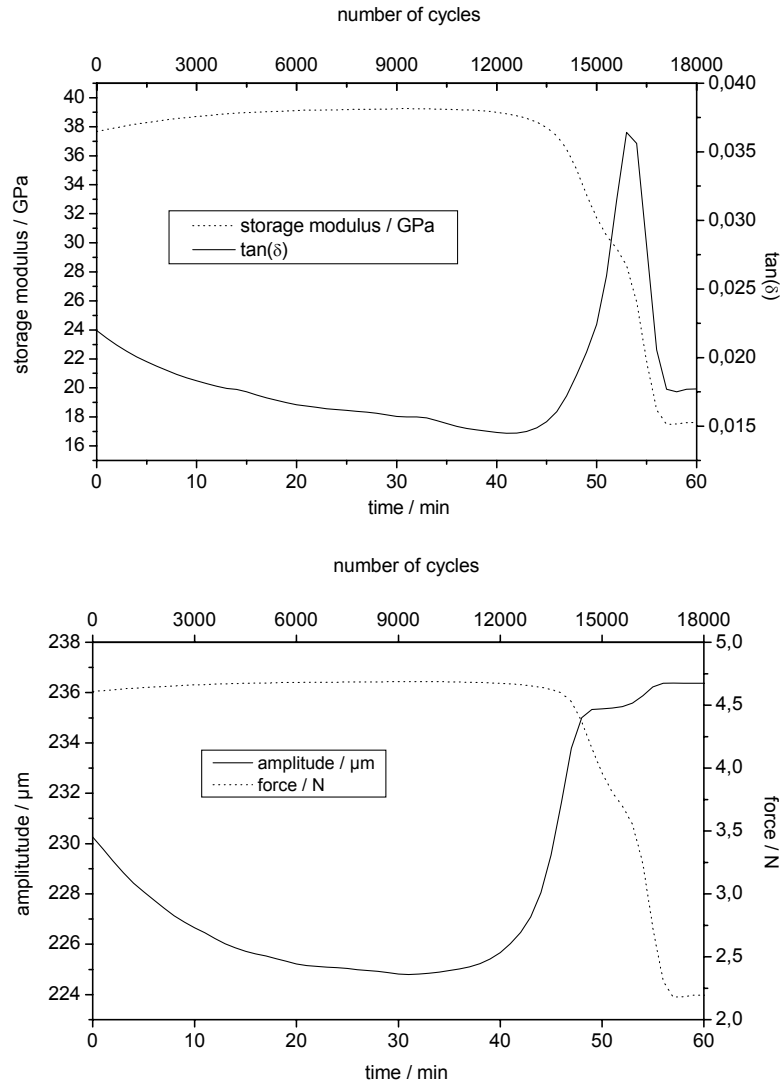
mit  $E_{St}$ : Speichermodul;  $E_{Los}$ : Verlustmodul;  $\tan(\delta)$ : Verlustfaktor;  $B$ : Biegelänge  
 $b$ : Probenbreite;  $h$ : Probenhöhe;  $F$ : dynamische Kraft;  $a$ : dynamische Auslenkung

Diese Berechnungen liefern eine Kurve in einem Speichermodul-Belastungszeit-Diagramm, die zuerst einen beinahe geraden Verlauf und nach dem Bruch des Drahtes einen Abfall zeigt (siehe Abb. 2.6.3.3). Aus dem geraden Bereich lässt sich der Elastizitätsmodul und aus dem Abfall die Bruchzeit bestimmen. Der Abfall kommt nicht plötzlich, er nimmt ca. 10 min in Anspruch, d. h. dass der Bruch durch einen langsam tiefer werdenden Riss entsteht. Diese langsame Vergrößerung eines kleinen Ursprungsrisses ist sowohl durch lichtmikroskopische als auch durch REM-Aufnahmen von Stahl (siehe Abb. 2.6.3.2) zu verfolgen. Auf dem Lichtbild ist die am Riss auftretende Spannung besonders gut zu sehen.



**Abbildung 2.6.3.2:** Lichtbilder (Stahl) und REM-Bilder (Stahl) des entstehenden Bruchs

Des Weiteren konnten auch Amplitude-Kraft-Diagramme dargestellt werden, wodurch das Verhalten des Drahtes unter Belastung gezeigt wird.



**Abbildung 2.6.3.3:** Beispielbelastungsdiagramme: typische DMA-Kurven von NiTi-Drähten (CuNiTi 19\*25; Luft; 37 °C); die konstante Amplitude von 225–230  $\mu\text{m}$  wird von der Anlage mit einer Kraft von 4,7 N aufrechterhalten; nach 45 min bricht der Draht; oben: Auftragung Speicher-Modul und  $\tan(\delta)$  gegen Zeit; unten: Auftragung Amplitude und Kraft gegen Zeit

Werte	Drahttypen				
	NiTi 18*25	CuNiTi 18	CuNiTi 19*25	CuNiTi 17*25	Stahl
Elastizitätsmodul in Luft / GPa	45.2(21)	30.8(7)	39.6(10)	44.0(14)	88.0(96)
Max. Amplitude in Luft / $\mu\text{m}$	224.0(35)	236.4(1)	223.5(42)	235.1(1)	154(12)
Max. Kraft in Luft / N	4.54(15)	2.15(5)	4.74(9)	4.23(9)	5.63(17)

**Tabelle 2.6.3.1:** Aus DMA bestimmte mechanische Eigenschaften der verschiedenen Drahttypen an Luft (in den Klammern sind die Standardabweichungen angegeben)

In Tabelle 2.6.3.1 an Luft ist zu erkennen, dass die mechanischen Eigenschaften aller untersuchten NiTi-Drähte vergleichbar waren, während der Stahldraht viel härter war. Der Elastizitätsmodul des Stahldrahts war mehr als doppelt so groß als der Wert der NiTi-Drähte und selbst bei der maximalen Kraft von ca. 6 N wurden nur 2/3 der Auslenkung von Stahl erreicht. Vor dem Bruch war der Elastizitätsmodul der NiTi-Drähte mehr oder weniger konstant, nur der runde CuNiTi18-Draht zeigte kleinere Werte bei gleichzeitiger kleinerer Krafteinwirkung und gleicher Auslenkung, was bedeutet, dass dieser elastischer war als die eckigen Drähte.

Eintauchen in verschiedene Lösungen zeigte kaum einen Unterschied, deshalb sind in Tabelle 2.6.3.1 nur Werte an Luft dargestellt. Die gemessenen Bruchzeiten sind in Tabelle 2.6.3.2 dargestellt:

Umgebung / Lösung	Drahttypen mit Bruchzeiten (min) und <i>Zyklenanzahl</i>									
	NiTi 18*25		CuNiTi 18		CuNiTi 19*25		CuNiTi 17*25		Stahl	
	Zeit	Zyklen	Zeit	Zyklen	Zeit	Zyklen	Zeit	Zyklen	Zeit	Zyklen
Luft	344(114)	103200	32.5(41)	9750	66(11)	19800	48(7)	14400	298(30)	89400
Dist. Wasser	52.5(41)	15750	19.3(12)	5790	60.5(96)	18150	23.3(14)	6990	295(42)	88500
0.85 mM Zitronensäure	69.3(38)	20790	28.3(22)	8490	66.3(33)	19890	28.7(43)	8610	290(30)	87000
150 mM NaCl	55.4(88)	16620	21.0(26)	6300	78.5(66)	23550	23.8(39)	8490	63.6(54)	19080
Künst. Speichel	70.8(41)	21240	23.2(11)	6960	60.7(27)	18210	22.5(18)	6750	110(14)	33000
F-halt. Speichel	107(31)	32040	27.8(14)	8340	31.7(21)	9510	22.5(18)	6750	189(48)	56700

**Tabelle 2.6.3.2:** Zeit (in min) mit der Standardabweichung (in Klammern) und Zyklenanzahl der orthodontischen Drähte bis zum Bruch

Die Bruchzeiten im DMA-Versuch können nicht direkt mit denen im Mund verglichen werden, da die Messbedingungen so ausgewählt wurden, dass ein Bruch in relativ kurzer Zeit (Stunden) und nicht erst nach Monaten eintritt. Untereinander lassen sich die Werte vergleichen, wobei die Anzahl der ausgeführten Belastungszyklen die entscheidende Rolle spielt.

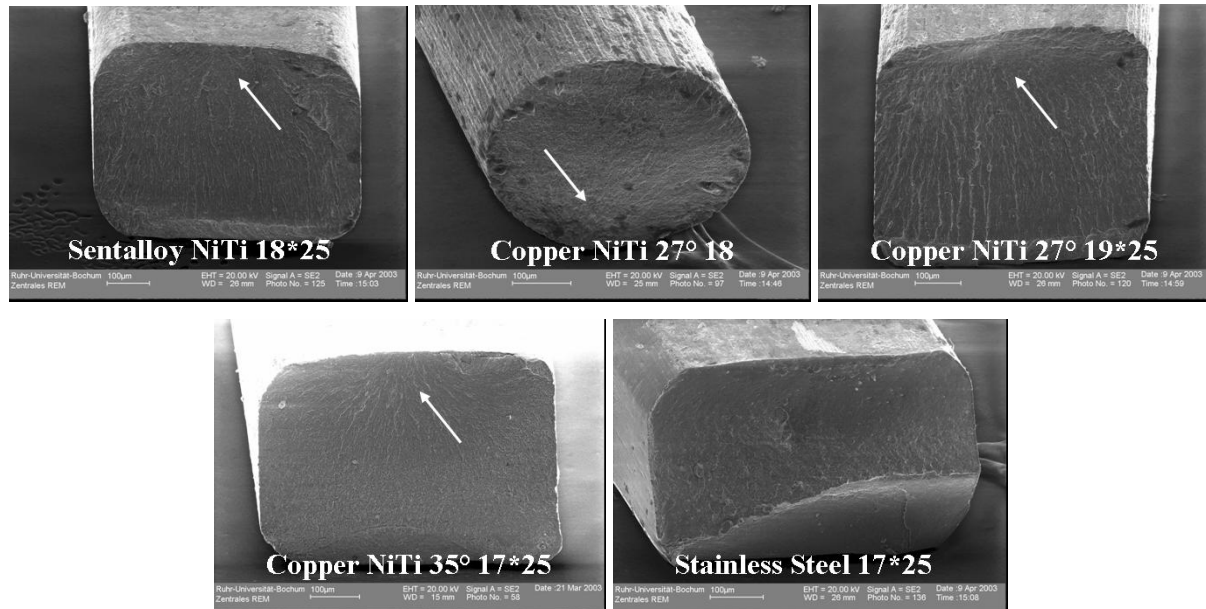
Zusammenfassend lässt sich sagen (siehe Tabelle 2.6.3.2), dass NiTi-Drähte eine längere Lebenszeit an Luft als CuNiTi-Drähte haben, während in Flüssigkeiten NiTi- und CuNiTi-19\*25-Drähte ungefähr gleiche Lebenszeiten zeigen. Die anderen zwei CuNiTi-Drähte (18 und 17\*25) haben untereinander eine ähnliche aber verglichen mit den vorangegangenen eine kleinere Lebensdauer. Die chemische Natur der Tauchflüssigkeiten dabei hat keinen großen Einfluss auf die Lebenszeit der NiTi- und CuNiTi-Drähte.



Stahl-Drähte haben verglichen mit NiTi- und CuNiTi-Drähten eine längere Lebenszeit an Luft und in den meisten Lösungen, die Anwesenheit anorganischer Salze verringert die Lebenszeit jedoch sehr, weil Stahl von den korrosiveren Medien stärker angegriffen wird, als das passivierte NiTi. Obwohl die Lebensdauer von Stahl-Draht höher ist als die der anderen Drähte, ist er schlechter für den Einsatz als Zahnsperre geeignet, da sein Elastizitätsmodul zu hoch ist (siehe Tabelle 2.6.3.1).

REM-Untersuchungen nach den Ermüdungstests zeigten keine Strukturänderung der Oberfläche entfernt oder nahe des Bruches. In den Flüssigkeiten konnte es aufgrund der kurzen Untersuchungszeit zu keiner sichtbaren Korrosion kommen, deshalb wird auf die REM-Aufnahmen verzichtet. Die Verkürzung der Lebensdauer des reinen NiTi in der Flüssigkeit kann jedoch über ein Eindringen von Molekülen in durch die Belastung entstandene Mikrorisse erklärt werden. In diesen ist die Oberfläche nicht von  $\text{TiO}_2$  passiviert und die Lösungsmittelmoleküle können die Vertiefung des Risses beschleunigen.

Auf REM-Aufnahmen von den Bruchstellen (siehe Abb. 2.6.3.4) war gut zu erkennen, dass die Brüche von einer Stelle am Rand ausgingen, womit Spannungsverteilung und Rissverlauf erklärt werden kann.

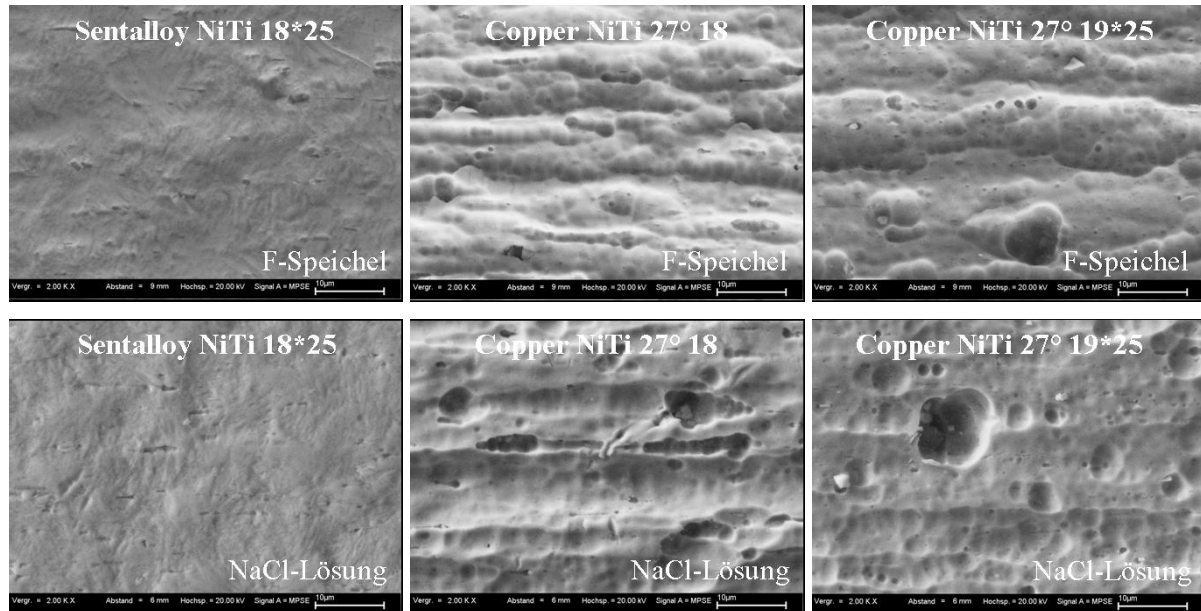


**Abbildung 2.6.3.4:** REM-Aufnahmen von Bruchstellen (rund und eckig); Pfeile: Rissverlauf

Um herauszufinden, ob ein längerer Kontakt mit den verschiedenen Flüssigkeiten zur Korrosion führte, wurden einige Proben 6 Tage lang in diese eingelegt und dann mittels REM untersucht (siehe Abb. 2.6.3.5). Teilweise, besonders beim runden CuNiTi18-Draht mit seinen von Beginn an tiefen Rillen, konnte eine Vertiefung der vorhandenen Rillen bzw. eine



Aufrauung oder ein scheinbares Aufquellen der Oberfläche abhängig vom jeweiligen Medium beobachtet werden (vergl. mit Abb. 2.6.2.1). Bei Stahl wurden keine sichtbaren Änderungen gefunden. Das dabei aggressivste Medium war fluoridhaltiger künstlicher Speichel, gefolgt von Natriumchlorid und danach künstlicher Speichel und Zitronensäure.



**Abbildung 2.6.3.5** REM-Aufnahmen der verschiedenen Drähte nach 6-tägiger Behandlung mit fluoridhaltigem künstlichen Speichel (oben) und Natriumchloridlösung (unten)

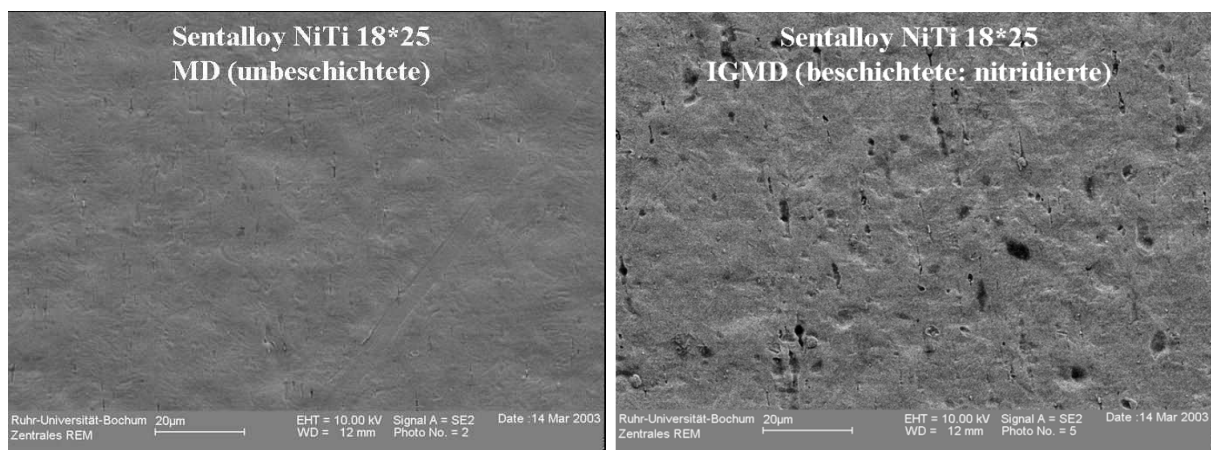
Zusätzlich zu den vorangegangenen DMA-Versuchen, bei denen die Biegung nur eine Amplitude von  $\pm 240 \mu\text{m}$  hatte, wurde untersucht, ob eine stärkere Belastung durch weiteres Biegen von 2-3 cm langen Drahtstücke bis zu einer Schlingenform zu Oberflächenveränderungen führt. Da an den Drähten auch im REM keine Veränderungen wie z. B. Risse oder Defekte festgestellt wurden, wird hier auf Bilder verzichtet.

## 2.6.4 Einfluss der Oberflächennitridierung auf die mechanische Eigenschaften der Drähte

Neben den Drähten aus reinem NiTi (MD) lieferte Neo Sentalloy, GAC Intl. (USA) auch noch nitridierte Drähte (IGMD-*ion guard*) von gleicher Geometrie  $0.018 \times 0.025''$  ( $0.46 \times 0.64 \text{ mm}$ ). Die Nitridierung der Oberflächenstruktur ist u. a. ein Verfahren zur dauerhaften Beschichtung von NiTi-Legierungen auch bei mechanischer Belastung, hier diente diese Behandlung neben der Verbesserung der Biokompatibilität der Reduzierung der Friktion.

Durch eine Herabsetzung der Reibung zwischen orthodontischem Draht und Zahnbracket könnte die Freisetzung des allergieauslösenden Nickels verringert werden, ebenso wie durch Abschirmung des NiTi.

DSC-Messungen zeigten keine großen Unterschiede der Phasenumwandlungstemperaturen bei MD- und IGMD-Drähten. Wie beim MD-Draht (siehe Tabelle 2.6.2.1) verlief die Phasenumwandlung von Austenit zu Martensit bei Raumtemperatur und ebenfalls über die R-Phase. Die Nitridierung beeinflusste die thermischen Eigenschaften des Materials also nicht. REM-Untersuchungen zeigten deutliche Unterschiede zwischen nitridierten und unnitridierten NiTi-Drähten (siehe Abb. 2.6.4.1), die auch schon durch eine Gelbfärbung des IGMD-Drahtes mit bloßem Auge erkennbar war. Die nitridierte Oberfläche war wesentlich rauer und besaß mehr Fehlstellen im Gegensatz zur beinahe vollkommen glatten Oberfläche des MD-Drahtes.



**Abbildung 2.6.4.1** REM-Aufnahmen der glatten Oberfläche des MD-Drahts und der rauen Oberfläche des IGMD-Drahts

Diese größere Rauigkeit könnte in DMA-Versuchen zu einer verringerten Lebensdauer führen, da sich zuvor gezeigt hatte, dass die Brüche immer von einem Ursprungsriss ausgehen. Dieser könnte in einer solchen Fehlstelle sicherlich leichter entstehen, als auf einer glatten Oberfläche. Diese Vermutung bestätigte sich bei durchgeführten DMA-Versuchen in verschiedenen Medien, wo die Lebensdauer der IGMD-Drähte durchweg kleiner war als die der MD-Drähte (siehe Tabelle 2.6.4.1).

Obwohl die mechanischen Bedingungen wie ausgeübte Kraft, Amplitude und Elastizitätsmodul bei allen Versuchen nahezu identisch waren, waren die Bruchzeiten der nitridierten Drähte zumindest in Flüssigkeiten deutlich kleiner als die der unnitridierten. Die Flüssigkeitsmoleküle waren offenbar in der Lage, in durch die Belastung entstandene

Mikrorisse einzudringen und so den Bruch zu beschleunigen. Die raue Nitridschicht auf der Metalloberfläche ist nur einige Nanometer dick und haftet so gut auf dem NiTi, dass in ihr entstandene Risse sich ins NiTi fortsetzen.

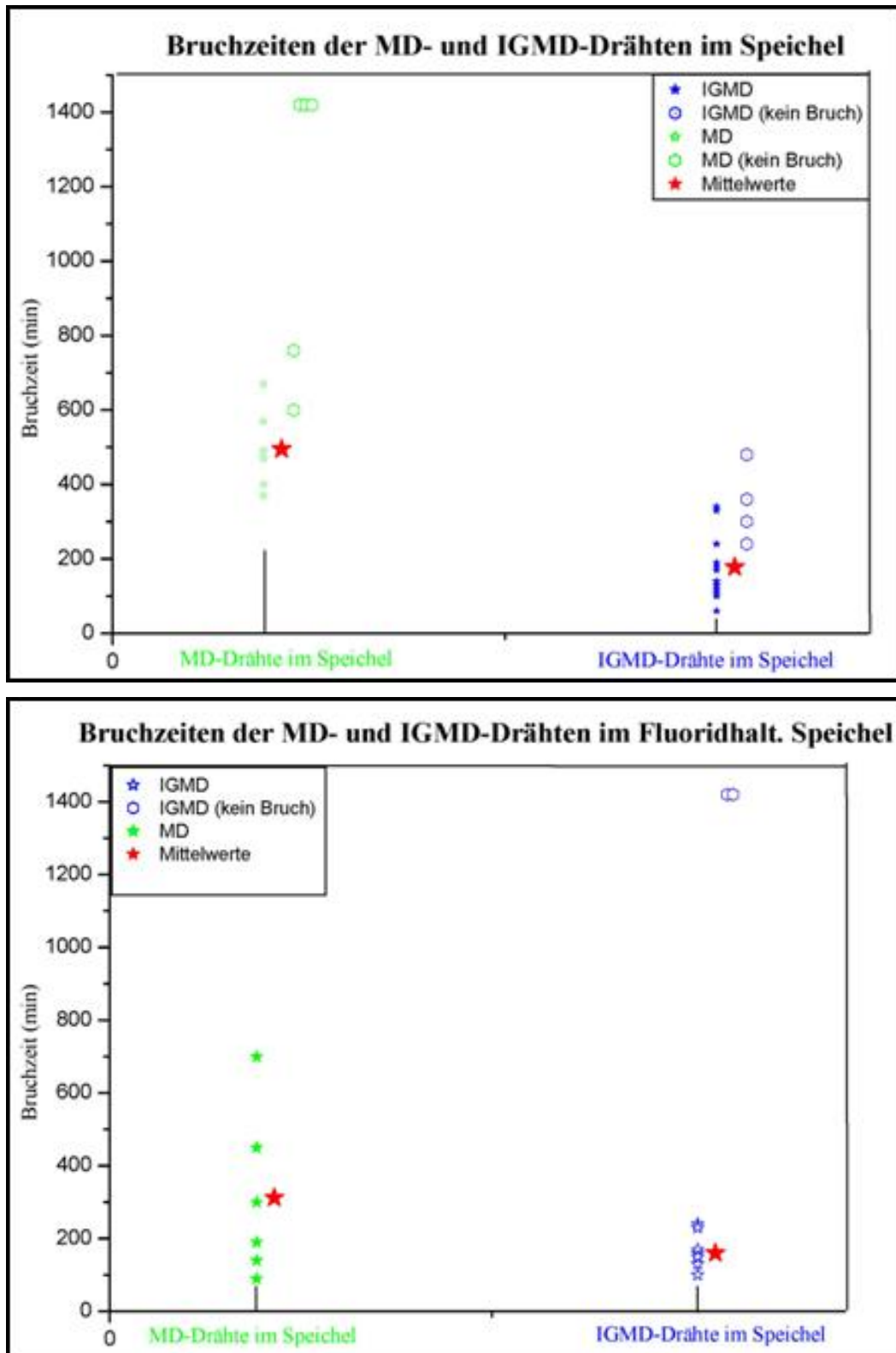
Umgebung / Lösung	Drahttypen mit Bruchzeiten (min) und <i>Zyklusanzahl</i>			
	<b>Sentalloy NiTi 18*25 MD</b>		<b>Sentalloy NiTi 18*25 IGMD</b>	
	Bruchzeit	<i>Zyklusanzahl</i>	Bruchzeit	<i>Zyklusanzahl</i>
Luft	344 ± 114	103200	381.7 ± 66.3	114510
Dest. Wasser	52.5 ± 4.1	15750	19.8 ± 1.1	5940
0.85 mM Zitronensäure	55.4 ± 8.8	16620	25.2 ± 3.3	7560
150 mM NaCl-Lösung	69.3 ± 3.8	20790	27.8 ± 3.2	8340
Künstlicher Speichel	70.8 ± 4.1	21240	55.8 ± 7.5	16740
F-haltiger Speichel	106.8 ± 30.6	32040	48.8 ± 7.8	14640

**Tabelle 2.6.4.1:** Bruchzeiten (in min) und Zyklusanzahl der MD-, IGMD-orthodontischen Drähte

Zur besseren statistischen Auswertung mit möglichst realistischen Medien wurden die Versuche mit künstlichem und fluoridhaltigem Speichel mit einer größeren Anzahl an Drähten wiederholt (6-18 Drähte, je nach Abweichung). Auch diese Untersuchungen zeigten, dass die IGMD-Drähte tendenziell schneller brachen (siehe Tabelle 2.6.4.2), obwohl erwähnt werden muss, dass einige Drähte aus beiden Gruppen in den 24 h Versuchszeit überhaupt nicht brachen (siehe Abb. 2.6.4.2).

Umgebung / Lösung	Drahttypen mit Bruchzeiten (min) und <i>Zyklusanzahl</i>			
	<b>Sentalloy NiTi 18*25 MD</b>		<b>Sentalloy NiTi 18*25 IGMD</b>	
	Bruchzeit	<i>Zyklusanzahl</i>	Bruchzeit	<i>Zyklusanzahl</i>
Künstlicher Speichel	495 ± 41 min	148500	178 ± 18 min	53400
F-haltiger Speichel	312 ± 85 min	93600	160 ± 17 min	48000

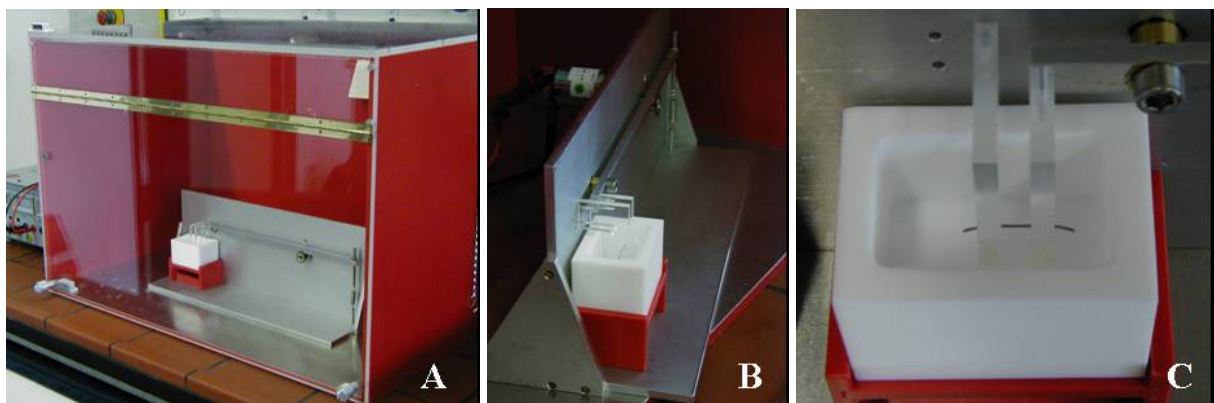
**Tabelle 2.6.4.2** Mehrere Versuche: Bruchzeiten (min) und Zyklusanzahl der MD-, IGMD-orthodontischen Drähte



**Abbildung 2.6.4.2** Graphische Zusammenfassung der durchgeführten DMA-Versuche mit MD- und IGMD-Drähten; die Tendenz wird deutlich, dass IGMD-Drähte schneller brechen, obwohl einige Drähte (kreisförmig markiert) überhaupt nicht brachen

### 2.6.5 Nickelfreisetzung aus orthodontischen Drähten

Für die Untersuchung der Nickelfreisetzung wurde eine neue Anlage (siehe Abb. 2.6.5.1 A) mit nickelfreien Bauteilen nach den mechanischen Spezifikationen der DMA-Anlage gebaut, da bei dieser Wanne und Halterungen einen zu großen Nickelanteil hatten. Es wurde erneut das Prinzip der einarmigen Biegung mit einer Arbeitslänge von 5 mm gewählt, auch die Frequenz von 5 Hz wurde beibehalten, allerdings wurde nicht mehr bei 37 °C, sondern bei Raumtemperatur gemessen, da der für eine Temperierung nötige apparative Aufwand hoch gewesen wäre. Die Biegung des einseitig mit einer Plexiglashalterung fixierten Drahtes wurde mittels eines an einer Kurbelwelle befestigten Hebels aus Aluminium ausgeübt. Die Kurbelwelle wurde von einem Motor hinter der Anlage angetrieben (siehe Abb. 2.6.5.1 B) und der Hebel an einem Ende von einer Feder gehalten. Am anderen Ende war eine Halterung aus Plexiglas befestigt, in die das freie Drahtende eingespannt und mit einer Teflonschraube festgeschraubt wurde (siehe Abb. 2.6.5.1 C). Das Entscheidende bei diesem Aufbau war, dass kein metallisches Bauteil in Kontakt mit der Lösung kam, in die der Draht und die Halterungen eingetaucht wurden, was bei der DMA-Anlage nicht der Fall war. Neben dem eingespannten und belasteten Draht wurde noch ein Draht in eine zweite Teflonwanne gelegt, um durch den Vergleich mit diesem unbelasteten Draht den tatsächlichen Einfluss der Belastung auf die Nickelfreisetzung zu ermitteln. Eine dritte Wanne ohne Draht sollte die Sauberkeit der Methode überprüfbar machen, da jede dort auftretende Nickelkonzentration aus einer Unsauberkeit resultieren musste. Die ganze Anlage stand in einer Plastikbox mit Sichtfenster, um äußere Einflüsse zu minimieren.



**Abbildung 2.6.5.1** A: Ni-Freisetzungsanlage in Plastikbox; B: seitliche Ansicht mit Motor auf der Rückseite; C: Teflonwanne mit eingespanntem Draht (Plastikhalterungen)

Es wurden die bereits bekannten MD- und IGMD-Drähte verwendet, von denen jeweils die beiden geraden Endstücke (ca. 2 cm) abgeschnitten und mit und ohne Belastung untersucht wurden. Dabei muss bemerkt werden, dass diese Messung am ehesten mit der Belastung eines Drahtstücks zwischen zwei Brackets gleichzusetzen ist und nicht einfach auf die Gesamtlänge eines Drahtes hochgerechnet werden sollte. Außerdem muss noch bedacht werden, dass die Belastung des Drahtes abhängig von der Schwere der Zahnfehlstellung ist. An den Stellen im Mund, wo die Zähne am weitesten vom Draht bewegt werden sollen, tritt wegen der stärkeren Kräfte auch die stärkste Ermüdung und damit auch die höchste Nickelfreisetzung auf. Wichtigstes Ziel der Messung war es festzustellen, in welchem Konzentrationsbereich die Nickelfreisetzung liegt, da die physiologisch wirksame Grenzen (ca. 30 ppm)<sup>[280]</sup> dabei nicht überschritten werden sollten.

Es wurden jeweils Drähte aus verschlossenen Packungen verwendet, die nach dem Ende der Messungen für weitere Untersuchungen aufbewahrt wurden. Die Messung und jedes Spülen wurde mit reinstem Wasser durchgeführt, da destilliertes Wasser noch einen viel zu hohen Nickelanteil besaß. Zur Befreiung der Gerätschaften von Nickelresten wurde verdünnte  $\text{HNO}_3$  verwendet. Wegen des hohen Nickelanteils im Säureschutzmantel der Haut wurden durchweg alle Arbeiten mit Latexhandschuhen durchgeführt. Alle Wannen wurden jeweils mit 35 mL Flüssigkeit gefüllt, da eine größere Menge zu Verlusten beim Einführen und Bewegen der Drahthalterung geführt hätte. Wegen Verdampfungsverlusten wurde kein kleineres Volumen gewählt, da im späteren Versuchsverlauf die Messzeit bis zu einer Woche betrug und dann der Draht noch in der Flüssigkeit sein musste. Vor der Nickelfreisetzung wurden jeweils die genauen Maße des Drahtes mittels einer Mikrometerschraube festgestellt, um später die freigesetzte Nickelmasse pro Flächeneinheit berechnen zu können.

Die erste Messung wurde mit einem MD-Draht durchgeführt.

Zu Beginn der Messung wurde alle 24 h je zwei 1 mL Proben aller drei Wannen genommen, das Wasser gewechselt und der jeweilige Verdampfungsverlust bestimmt um später die freigesetzte Nickelmasse berechnen zu können. Bei einer der Proben wurde mittels AAS die Nickelkonzentration gemessen, die zweite wurde aus Sicherheitsgründen (Messfehler) aufbewahrt. Nach 7 Tagen wurde der Konzentrationsverlauf als so gleichmäßig angesehen, dass tägliche Messungen nicht mehr für nötig gehalten wurden und daher nur noch im 3-Tage-Rhythmus (15 Tage lang) gemessen wurde (siehe Tabelle 2.6.5.1). Danach wurde auf einen 7-Tage-Rhythmus umgestellt (4 Wochen lang), da die Änderungen in den Konzentrationen der 3-Tages-Werte nur klein waren. Nach insgesamt 50 Tagen wurde die

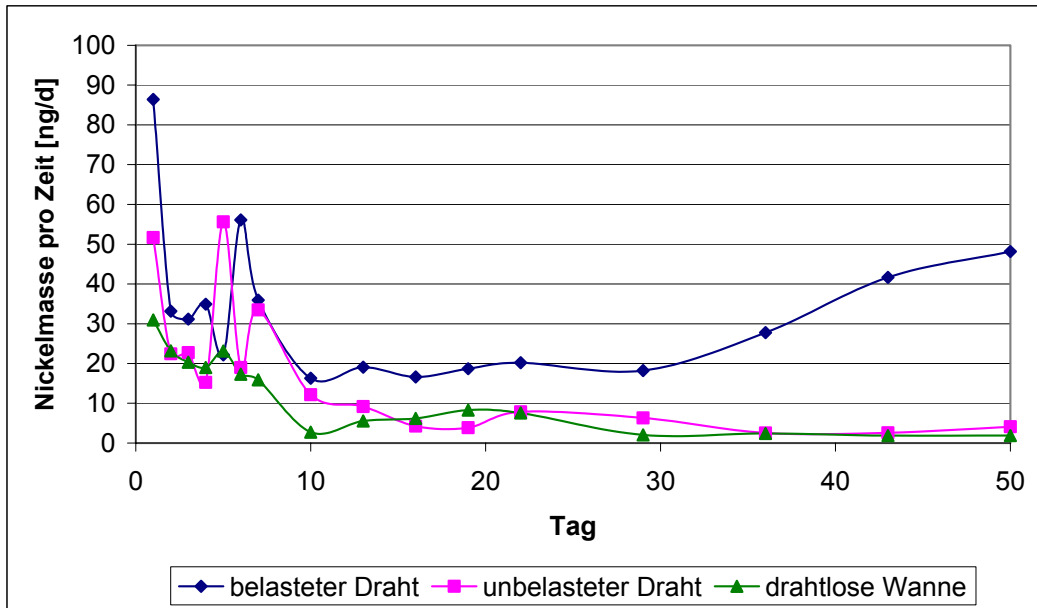
Messung beendet, da nach dieser Zeit auch der medizinische Einsatz typischerweise beendet und der Draht ausgewechselt wird.

Für die zweite Messung nach gleichem Prinzip und Rhythmus wurde ein IGMD-Draht verwendet, um den Einfluss der Oberflächennitridierung zu quantifizieren.

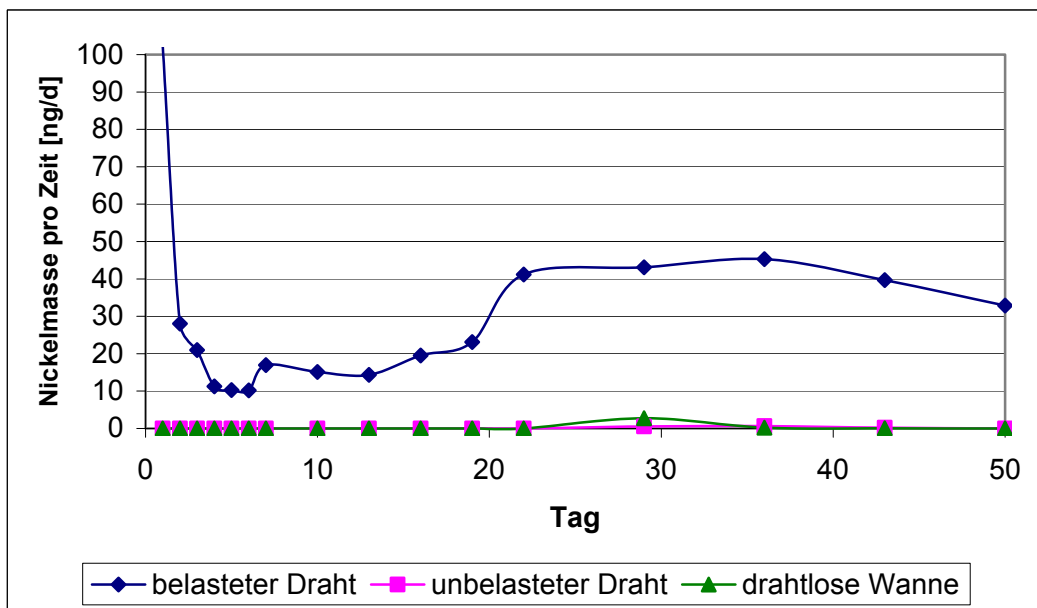
Probe	Tag	Dauer [d]	Ni-Masse <b>MD-Draht</b> [ng]			Ni-Masse <b>IGMD-Draht</b> [ng]		
			B	D	L	B	D	L
1	1	1	86.4	51.7	30.9	102.6	0.0	0.0
2	2	1	33.2	22.4	23.2	28.0	0.0	0.0
3	3	1	31.2	22.8	30.2	21.0	0.0	0.0
4	4	1	34.9	15.3	29.2	11.3	0.0	0.0
5	5	1	22.2	55.6	49.0	10.3	0.0	0.0
6	6	1	56.1	19.0	32.9	10.2	0.0	0.0
7	7	1	35.9	33.5	31.8	17.0	0.0	0.0
8	10	3	48.8	36.5	8.2	45.3	0.0	0.0
9	13	3	57.2	27.6	16.6	43.0	0.0	0.0
10	16	3	49.9	12.7	18.6	58.6	0.0	0.0
11	19	3	56.1	11.6	24.9	69.3	0.0	0.0
12	22	3	60.6	23.6	22.6	123.5	0.0	0.0
13	29	7	127.5	44.3	14.4	301.6	3.8	19.1
14	36	7	194.3	17.9	16.9	317.0	4.4	1.5
15	43	7	291.6	18.0	53.9	277.9	1.5	0.2
16	50	7	337.1	28.8	13.1	230.0	0.0	0.0

**Tabelle 2.6.5.1** Zusammenfassung der Ni-Freisetzung: Probe, Tage seit Freisetzungsbeginn, Freisetzungsdauer für jeweilige Probe, zeitbereinigte freigesetzte Nickelmasse für MD- und IGMD-Draht in Wasser; B: belasteter Draht, D: unbelasteter Draht, L: drahtlose Wanne

Mit den oben dargestellten gemessenen Konzentrationen aus einem Milliliter und den nach Verdampfung übrig gebliebenen Volumina konnte die von den Drähten freigesetzte Nickelmasse berechnet werden. Bei den länger als einen Tag andauernden Messungen wurde noch durch die Anzahl der Tage geteilt, um diese Mittelwerte mit den 1-Tages-Werten vergleichen zu können. Aus diesen freigesetzten Nickelmassen pro Tag wurden dann die Graphen erstellt (siehe Abb. 2.6.5.2, 2.6.5.3), deren Anstieg also nicht aus der Verlängerung der Messdauer resultiert, sondern aus einem tatsächlichen Anstieg der freigesetzten Nickelionen pro Zeiteinheit.



**Abbildung 2.6.5.2** Nickelfreisetzungskurven von MD-Draht in Wasser.



**Abbildung 2.6.5.3** Nickelfreisetzungskurven von IGMD-Draht in Wasser.

Ein erstes wichtiges Ergebnis der Messungen war, dass alle Nickelkonzentrationen bei beiden Drähten im unteren ppb-Bereich lagen. Der durchschnittlich freigesetzte Wert pro Tag war 30 ng, was weit unter dem nach medizinischer Ansicht allergieauslösenden Bereich liegt. Außerdem wäre die durchgeführte Messung mit einem tagelangen ununterbrochenen „Kauen“ ohne Wasseraustausch vergleichbar, was in der Realität niemals in dieser Form geschehen würde.



Die starken Schwankungen zu Beginn der ersten Messung (MD-Draht) sind mit Verunreinigungen durch den Arbeitsprozess zu erklären, was daran zu erkennen ist, dass auch die leere Wanne Nickelwerte lieferte, vereinzelt sogar höhere als der belastete Draht. Die Verunreinigungen konnten durch Optimierung des Arbeitsprozesses mit der Zeit (nach der ersten Woche) minimiert werden und spielten bei der zweiten Messung keine Rolle mehr.

Vergleicht man die B-Graphen (belasteter Draht) für MD- und IGMD-Draht, fällt der ähnliche Verlauf auf. Zuerst fällt der Nickelwert nach einem hohen Beginn ab und steigt dann langsam wieder an. Dieser Verlauf ist untypisch für die eigentliche NiTi-Passivierung, die zu einer stetigen Verringerung der freigesetzten Nickelmenge führen müsste, und ist mit einer fortwährenden Beschädigung der TiO<sub>2</sub>-Schicht durch die Belastung zu erklären.

Der Unterschied zwischen beiden Graphen ist erst im hinteren Bereich zu erkennen. Der Anstieg ist beim MD-Draht langsamer und es werden auch nicht so hohe Werte wie beim IGMD-Draht erreicht. Bei diesem wird nach 36 Tagen ein Maximum erreicht, worauf die Werte wieder langsam fallen. Es ist also zu sehen, dass die nitridierte Oberfläche des IGMD-Drahtes unter Belastung schneller Nickel freisetzt und keinen wirklichen Schutz bietet. Die D-Werte für die unbelasteten Drähte zeigen jedoch, dass die Nitridierung den Vorteil hat, die Nickelfreisetzung ohne Belastung vollkommen zu unterbinden, was beim unnitridierten Draht nicht der Fall war.

### **2.6.6 Zusammenfassung**

1. Mittels DMA-Untersuchungen können die mechanischen Eigenschaften wie E-Modul, Bruchzeit und unter Belastung auftretende Kräfte von verschiedenen orthodontischen Drähten untersucht werden.
2. DMA-Messungen können auch unter physiologischen Bedingungen in verschiedenen Flüssigkeiten durchgeführt werden und somit als Simulationen für bestimmte medizinische Anwendungen fungieren.
3. Dabei wurde festgestellt, dass korrosivere Medien die Bruchzeit nicht wesentlich beeinflussen, da die Aufenthaltsdauer zu kurz ist. Erst nach längerem Aufenthalt wird Korrosion sichtbar.
4. Orthodontische Drähte aus Nitinol<sup>®</sup>, setzen unter Belastung erhöhte Nickelmengen frei, eine Oberflächennitridierung scheint diesem Problem nicht wirksam entgegenzuwirken.

## 2.7 Mikrotomographische Untersuchungen an biologischen Proben

Die Mikrocomputertomographie ist eine sehr nützliche Methode zur Untersuchung von Biomineralen, da sie 3-dimensionale Aufnahmen von kleinen Mineralstrukturen ermöglicht<sup>[284-286]</sup>. Es ist im Gegensatz zu anderen Methoden (z.B. REM) nicht erforderlich, die Mineralpartikel aus einer sie umgebenden organischen Matrix zu isolieren, so dass keine durch die Probenvorbereitung hervorgerufenen Artefakte entstehen können. Biomineralien eignen sich zur Untersuchung durch die bei der Mikrotomographie verwendeten Synchrotronstrahlung, da sie eine höhere Absorption als das sie umgebende Weichgewebe besitzen, dieses wird daher durchsichtig und nur der mineralische Anteil wird sichtbar<sup>[130, 287]</sup>. Zu den Vorteilen dieser Methode gehören die milden Bedingungen während der Untersuchung (Druck, Temperatur), weshalb empfindliche Gewebe nicht beschädigt werden. Auch die innere Struktur der Proben wird sichtbar und skalierbar bis zum  $\mu\text{m}$ -Maßstab ohne die Notwendigkeit zu schneiden und damit die Probe zu zerstören. Mit der entsprechenden Software besteht die Möglichkeit, unterschiedlich absorbierende Gewebe einer Probe darzustellen und so z. B. den Unterschied von Enamel und Dentin oder den Übergang von Knochen zu Knorpel zu erkennen. Aus den 3-dimensionalen Aufnahmen (im Vergleich zum 2-D Analyseverfahren: REM) lassen sich auch sehr anschauliche Filme erstellen, was für das Schneckengehäuse und die Rhopalie sehr aufschlussreich war.

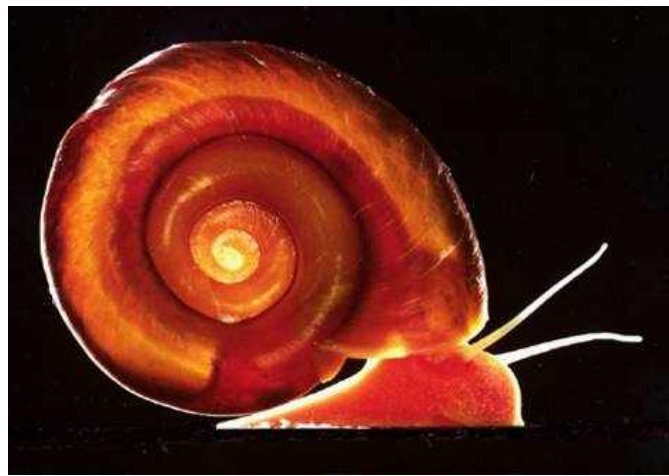
Das durch die vielen Vorteile der Mikrotomographie in Verbindung mit anderen Methoden (XRD, REM) erlangte Verständnis von Biomineralisationsprozessen ist in vielerlei Hinsicht von Bedeutung: In der Medizin wird die Nachahmung der Mineralisationsvorgänge für z.B. Implantationen untersucht, in der Biologie ist die Klassifizierung von Tier- und Pflanzenarten möglich.

Die drei in dieser Arbeit mittels Mikro-CT untersuchten Biominerale waren die Schale der Schnecke *Biomphalaria glabrata*, die Rhopalien der Meduse *Aurelia aurita* und tierische sowie einige menschliche Zähne mit orthodontischen Brackets.

### 2.7.1 Schneckengehäuse

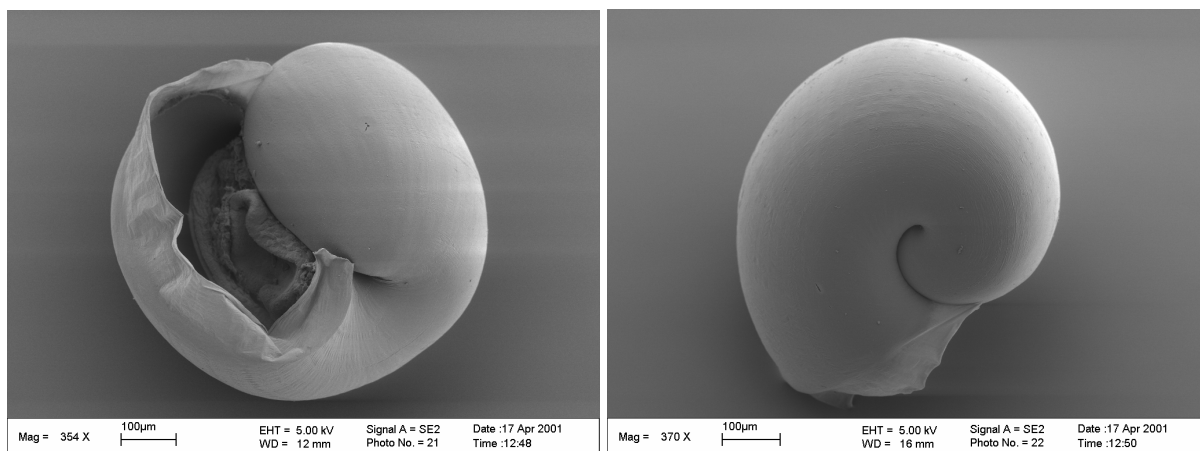
*Biomphalaria glabrata* ist eine tropische Posthornschnecke (siehe Abb. 2.7.1.1), die wie alle Schnecken Eier legt. In den Eiern entwickeln die Embryonen bereits vor dem Schlüpfen eine Schale, die zunächst röntgenamorph ist, nach kurzer Zeit aber kristallines Calciumcarbonat in der Aragonit-Struktur enthält<sup>[286]</sup>. Die untersuchten Embryonen von *Biomphalaria glabrata*

waren 120 h alt, obwohl die Mineralisation schon nach 60 h beginnt. Zu diesem Zeitpunkt entstehen die ersten Calciumcarbonat-Kristalle, die nach weiteren 20 h von einer zentralen Spindel aus eine sich langsam aufrollende kappenförmige Struktur bilden. Zusätzlich wachsende Windungen der Schale umschließen die zuvor gebildeten, wodurch ein Schneckenhaus aus vielen spiralförmig verlaufenden Windungen besteht. Bei 120 h alten Schnecken sind Kristallisation und Wachstum so weit fortgeschritten, dass mittels Mikro-CT Unterschiede in der Absorption zwischen früher und später gebildeten Schalenabschnitten festgestellt werden konnten.



**Abbildung 2.7.1.1.** Der erwachsene Schnecke *Biomphalaria glabrata*

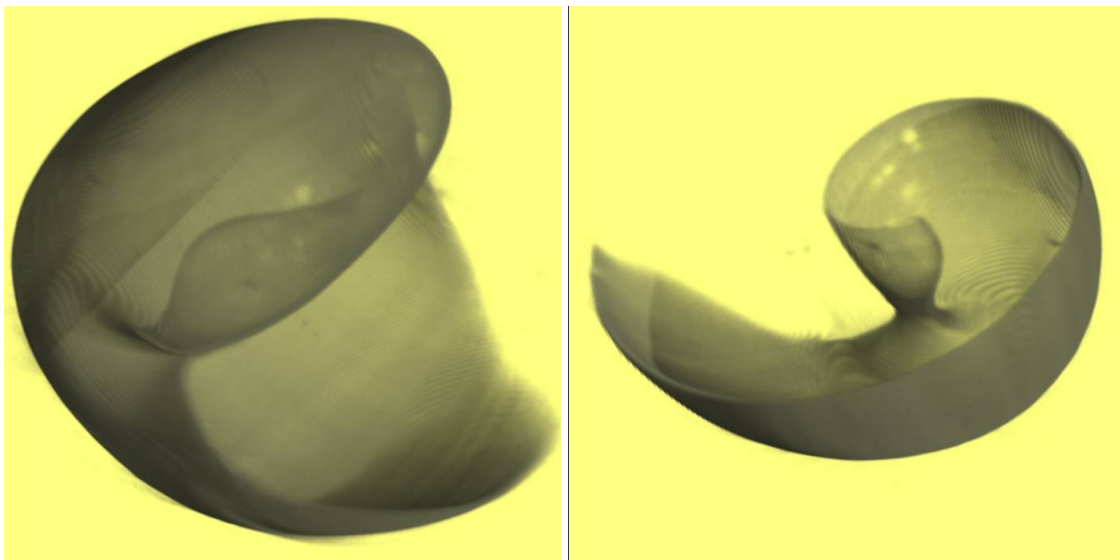
Von Dr. J. Marxen (Biocenter Grindel, Universität Hamburg) gemachte REM-Aufnahmen (siehe Abb. 2.7.1.2) lieferten Informationen über Größe (0.5 mm) und Form der gebildeten Schale mit nur einer Windung.



**Abbildung 2.7.1.2:** REM-Aufnahmen: 120 h alte Embryonen von *Biomphalaria glabrata*

Das Hauptziel der mikrotomographischen Untersuchungen war die Messung der Schalendicke an verschiedenen Stellen der Schnecke, zusätzliches Ziel war ein besseres Verständnis des Wachstumsprozesses.

Die aus Hamburg gelieferten Embryonen waren zur mikrotomographischen Untersuchung speziell präpariert<sup>[288]</sup>. Sie wurden in jeweils einen kleinen Block mit einer Größe von etwa  $5 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$  aus Kunstharz von geringer Dichte eingebettet. Das Harz wurde gewählt, weil das die Schnecken umgebende Material eine geringe Absorption besitzen musste. Durch Abfeilen des Würfels wurde eine zylindrische Form mit Durchmesser von etwa 2 mm erreicht, da die Probe während der Messung eine Drehung ausführte (siehe Kapitel 3.5) und die Absorption des Harzes aus jeder Richtung gleich groß sein musste. Die so vorbereiteten Proben wurden im DESY (Hamburg, Hasylab) an der Beamline BW2 bei einer Energie von 11.5 keV untersucht, wobei die maximale Vergrößerung 5.98 und die Auflösung wenige  $\mu\text{m}$  betrugen. Die Untersuchung umfasste den Winkelbereich von  $0-180^\circ$  in  $0.25^\circ$  Schritten. Nach der Rekonstruktion am DESY wurden die Daten (2-D Schnitte durch die Probe) mit dem Programm VG Studio MAX 1.2 in Essen ausgewertet und in dreidimensionale Bilder umgewandelt (siehe Abb. 2.7.1.3).



**Abbildung 2.7.1.3:** Mikrotomographische Aufnahmen: 120 h alte Embryonen von *Biomphalaria glabrata*

Die Dimensionen von individuellen Details konnten nicht aus den errechneten dreidimensionalen Aufnahmen (Voxel), sondern nur aus den ursprünglichen zweidimensionalen Schnittbildern durch die Probe ermittelt werden. Dazu wurde mit Hilfe von MS Paint die Anzahl der Pixel eines Details, z. B. der Dicke der Schneckenschale,

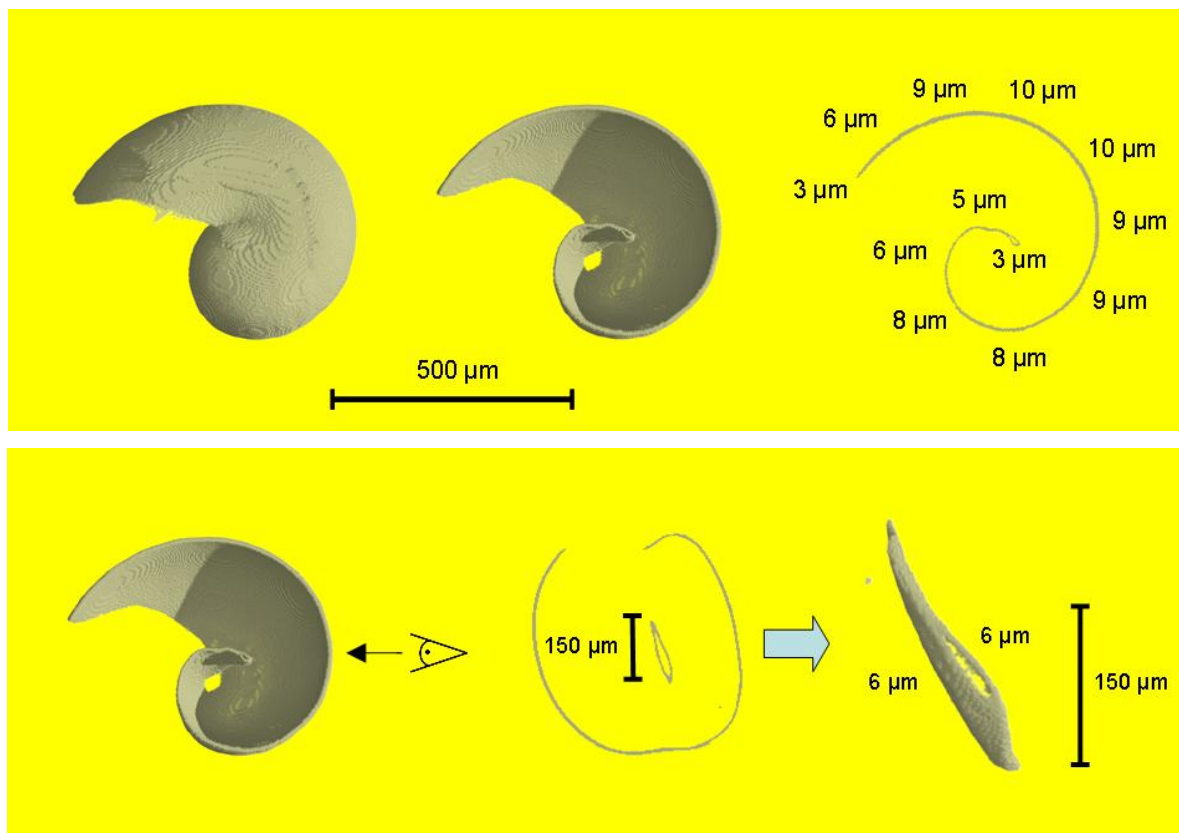
gezählt, mit der Kantenlänge eines Voxels (9 µm) multipliziert und dann durch die Vergrößerung geteilt:

$$\text{Größe} = (\text{Pixel} \times 9 \mu\text{m}) / \text{Vergrößerung}$$

Dabei mussten eventuelle Unterschiede in den Auflösungen des Schnittbilds und des MS Paint Bildes berücksichtigt werden, weshalb die Größe dann um diesen Faktor erweitert werden musste.

Im Vergleich zu oberflächlichen REM-Bildern zeigen mikrotomographische Aufnahmen auch den inneren Aufbau des Schneckengehäuses, z. B. über die Durchführung eines Längsschnitts (siehe Abb. 2.7.1.4). Über die Wahl der Absorptionsintensität besteht in VG Studio MAX 1.2 dazu die Möglichkeit das Gehäuse teilweise transparent zu machen, wodurch sich weitere Details des Windungswachstums erkennen lassen (siehe Abb. 2.7.1.3).

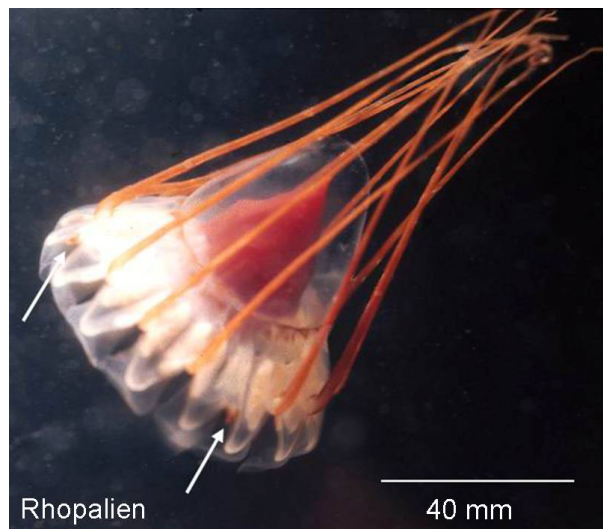
Zur Bestimmung der Schalendicke wurden ein perpendikularer und ein frontaler Schnitt durchgeführt (siehe Abb. 2.7.1.4), was zur Erkenntnis führte, dass die Dicke eine Funktion des Alters war. Auch die spiralförmige Schalenstruktur konnte mit dem Schnittverlauf von außen nach innen verfolgt werden.



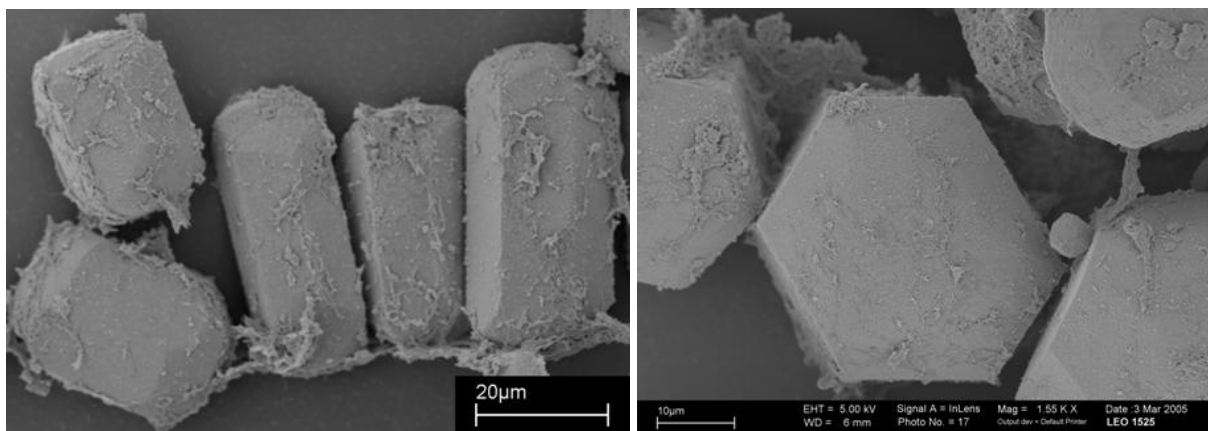
**Abbildung 2.7.1.4** Mikrotomographische Aufnahmen: 120 h alte Embryonen von *Biomphalaria glabrata*; über verschiedene Schnitte kann Schalendicke definiert werden

## 2.7.2 Rhopalien

Wie alle Quallenarten orientiert sich die Tiefseequalle *Aurelia aurita* (siehe Abb. 2.7.2.1) mit Hilfe von speziellen Organen, den Rhopalien, die vermutlich als Schwerkraft- und Trägheitssensoren fungieren. In diesen Organen befinden sich anorganische Kristalle, die so genannten Statolithen, welche ein kugelförmiges Aggregat bilden<sup>[289]</sup>. Sie bestehen aus einer großen Anzahl von Calciumsulfatkristallen, bzw. aus der Hemihydrat-Phase Bassanit ( $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ ), was Einkristall-Diffraktometrie am HASYLAB zeigte<sup>[290, 291]</sup>. Von Dr. H. Tiemann (Biocenter Grindel, Universität Hamburg) gemachte REM-Bilder zeigten, dass die aus der Rhopalie extrahierten Kristalle (ca. 20-30  $\mu\text{m}$ ) eine hexagonale Morphologie besaßen (siehe Abb.2.7.2.2).



**Abbildung 2.7.2.1:** Die Meduse *Aurelia aurita* mit Rhopalien

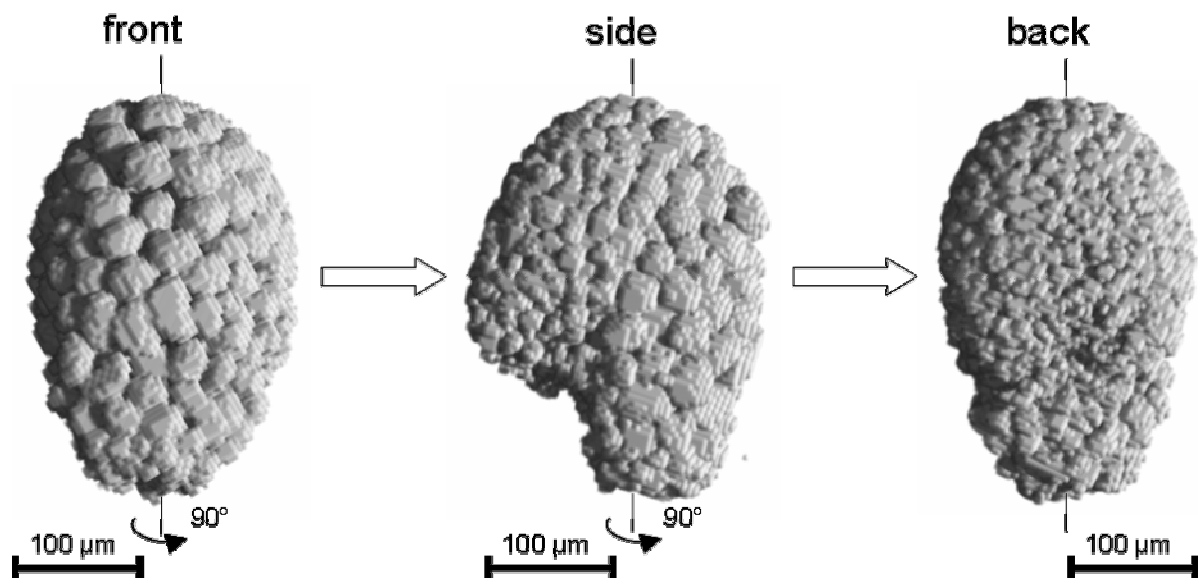


**Abbildung 2.7.2.2:** REM-Aufnahmen der Rhopalien der Meduse *Aurelia aurita*

Das Hauptziel der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen war das Sammeln von Informationen zur Kristallgröße und Größenverteilung der Statholithen.

Für die mikrotomographischen Untersuchungen wurden zwei präparierte Rhopalien der *Aurelia aurita* von Dr. H. Tiemann geliefert, in denen jeweils eine vollständige Kristallkugel (Statolithen) vorhanden war (präpariert entsprechend dem Spur<sup>[288]</sup>). Nach dem Fang waren sie getrocknet und im Kunstharz Epon eingebettet worden. Die erste runde Probe besaß mit etwa 5.5 mm einen zu großem Durchmesser im Vergleich zu den wesentlich kleineren Rhopalien. Nach Abschleifen auf ca. 1.8-2.0 mm war die Auflösung hoch genug, um die Morphologien der einzelnen Kristalle zu erkennen. Es wurden dieselben Messbedingungen und Auswertungsmechanismen wie bei der vorigen Untersuchung der Schneckenschalen verwendet (siehe oben).

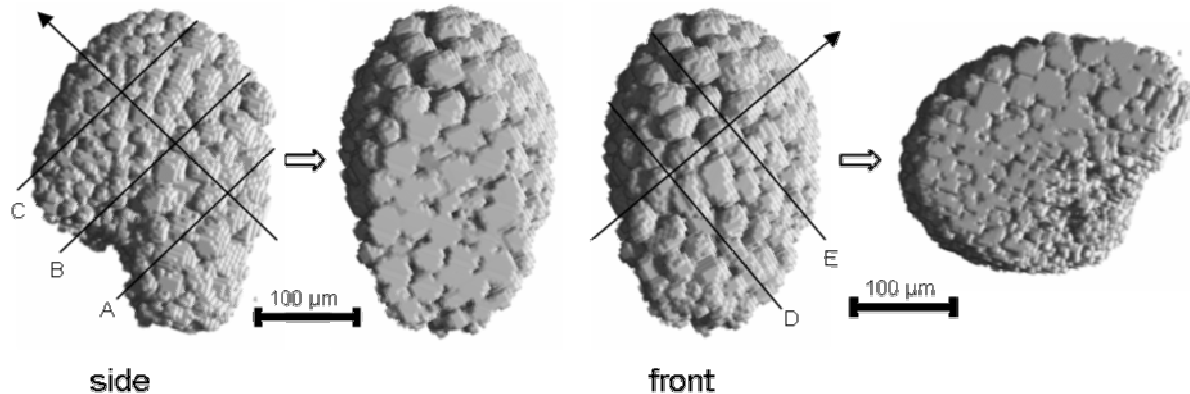
Mikro-CT-Bilder offenbarten (siehe Abb. 2.7.2.3), dass die Form der Rhopalie nicht exakt rund sondern eher länglich war und außerdem Einbuchtungen besaß. Die Größe der oberflächlichen Kristalle war nicht einheitlich, stattdessen war eine ortsabhängige (anisotrope) Größenverteilung zu sehen. Auf der „front“-Seite waren die Kristalle mit ca. 45 µm am größten, an der Seite sank die Größe in Richtung der „back“-Seite, wo die Kristalle nur noch ca. 15 µm groß waren.



**Abbildung 2.7.2.3:** Mikro-CT von Rhopalien der Meduse *Aurelia aurita*; die Einteilung in „front“, „side“ und „back“ ist willkürlich gewählt, um die Beschreibung zu erleichtern



Die innere Größenverteilung konnte ermittelt werden, indem man eine Schnittfläche vom Mittelpunkt der „front“-Seite zur „back“-Seite bewegte, dabei wurde schräg nach oben vorgegangen, um immer möglichst große Schnittflächen zu erhalten (siehe Abb. 2.7.2.4). Die Schnitte A, B und C waren senkrecht zur dabei entstehenden Achse. Die Schnitte D und E wurden ebenfalls senkrecht, allerdings entlang einer anderen Achse gemacht, um auch die seitliche Größenverteilung zu erfassen.

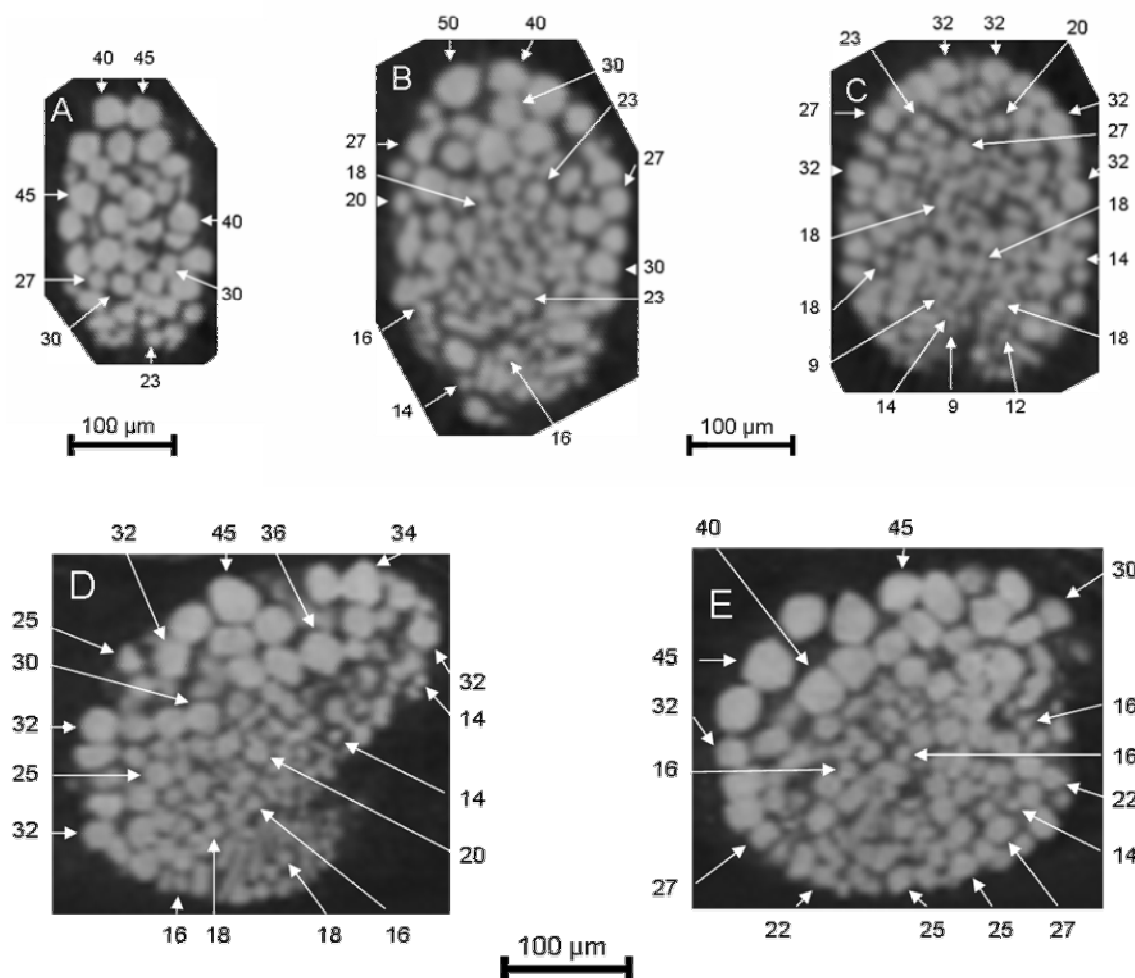


**Abbildung 2.7.2.4** Mikrotomographische Aufnahmen: Rhopalien der Meduse *Aurelia aurita* mit eingezeichneten Schnittflächen senkrecht zur Schnittachse

Bei den Schnitten durch die Rhopalie (siehe Abb. 2.7.2.5) wurde festgestellt, dass die innen liegenden Kristalle kleiner waren als die peripheren Kristalle an der „front“-Seite. Diese großen Kristalle bilden eine Deckschicht, unter der die Kristalle immer kleiner werden, bis sie im Zentrum eine ähnlich kleine Größe aufweisen wie die auf der „back“-Seite (Schnitt B). Je weiter von der „front“-Seite entfernt, desto kleiner werden die Kristalle der außen liegenden Deckschicht, wobei die Größe der zentralen Kristalle nahezu konstant bleibt (Schnitt C). Die Schnitte D und E entlang der seitlichen Achse zeigen dieselbe Größenverteilung. Die größten Kristalle bilden eine Deckschicht an der „front“-Seite; weiter in Richtung „back“-Seite werden die Kristalle immer kleiner bis ca. 15 µm.

Einige Kristalle, besonders die größeren, weisen eine eckige Struktur auf (siehe Abb. 2.7.2.5), die mit der auf REM-Aufnahmen gefundenen hexagonalen Morphologie (siehe Abb. 2.7.2.2) korrespondiert.





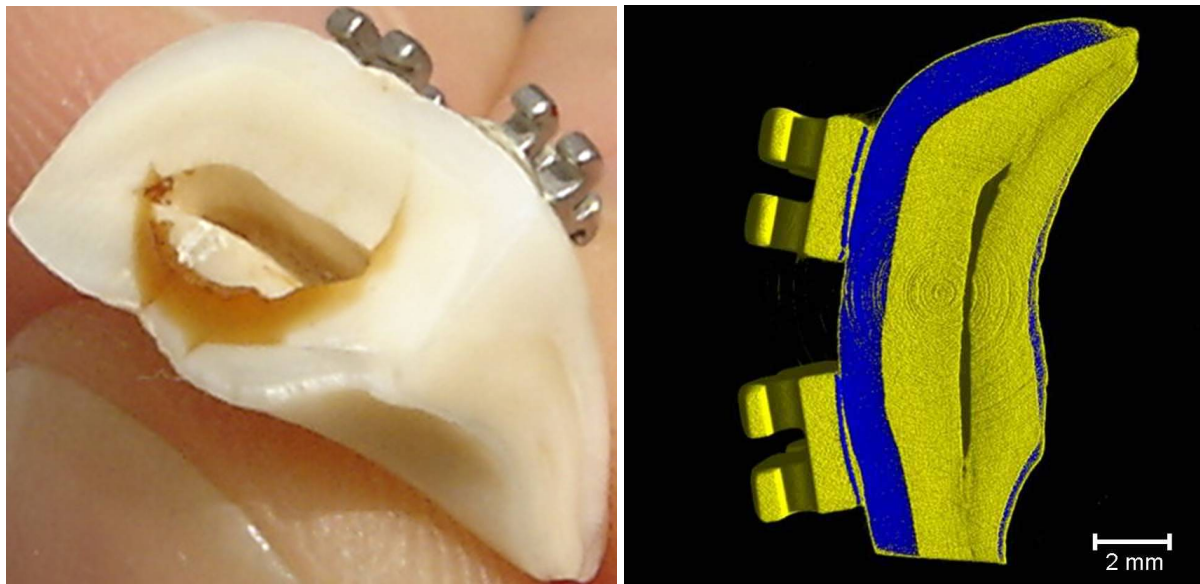
**Abbildung 2.7.2.5:** Softwareerzeugte 2D-Schnitte von Rhopalien der Meduse *Aurelia aurita*. (Zahlenangabe in µm)

### 2.7.3 Zähne

Das Hauptziel der Untersuchungen an Zähnen (siehe Kapitel 1.4.2) war die Ermittlung des Einflusses von organischem Kleber zur Fixierung von orthodontischen Brackets auf die Zahnoberfläche (siehe Abb. 2.7.3.1 links). Alle untersuchten Zähne (zum größten Teil Schneidezähne des Rinder- Unterkiefers und auch einige wenige menschliche Zähne) wurden von Dr. A. Klocke (Kieferorthopädie UKE Hamburg) geliefert und waren nicht in Kunstharz eingebettet, da dies unnötig war. Die Brackets wurden an der Zahnoberfläche nach Standardmethode (30 s Ätzung der Enameloberfläche mit Phosphorsäure; Kleber Bis-GMA) fixiert<sup>[292]</sup>.

Die Arbeit bestand aus zwei Messreihen. Bei der ersten wurden ganze Zähne (cm-Maßstab) mit jeweils zwei angeklebten Brackets ( $\text{Al}_2\text{O}_3$  oder Metall) mit maximaler Strahlenergie der Beamline W2 (DESY) von 50 keV untersucht. Dabei erwies sich  $\text{Al}_2\text{O}_3$  als die bessere Wahl,

da die Absorption dieses Materials näher an der des Zahns lag (siehe Abb. 2.7.3.1 rechts), wohingegen die metallischen Brackets eine wesentlich höhere Absorption zeigten, was zu starken Beeinträchtigungen der Messung führte. Bei dieser Messreihe betrug wegen der Probengröße die Vergrößerung 0.85 bei einer Auflösung von 10.5  $\mu\text{m}$ , was sich als nicht ausreichend erwies, um die gewünschten Oberflächendetails im Größenbereich von wenigen  $\mu\text{m}$  zu erkennen. Dies bedeutet jedoch nicht, dass es keinen Einfluss des Klebers auf den Zahn gab, die Veränderungen waren in diesem Maßstab einfach nicht erkennbar.



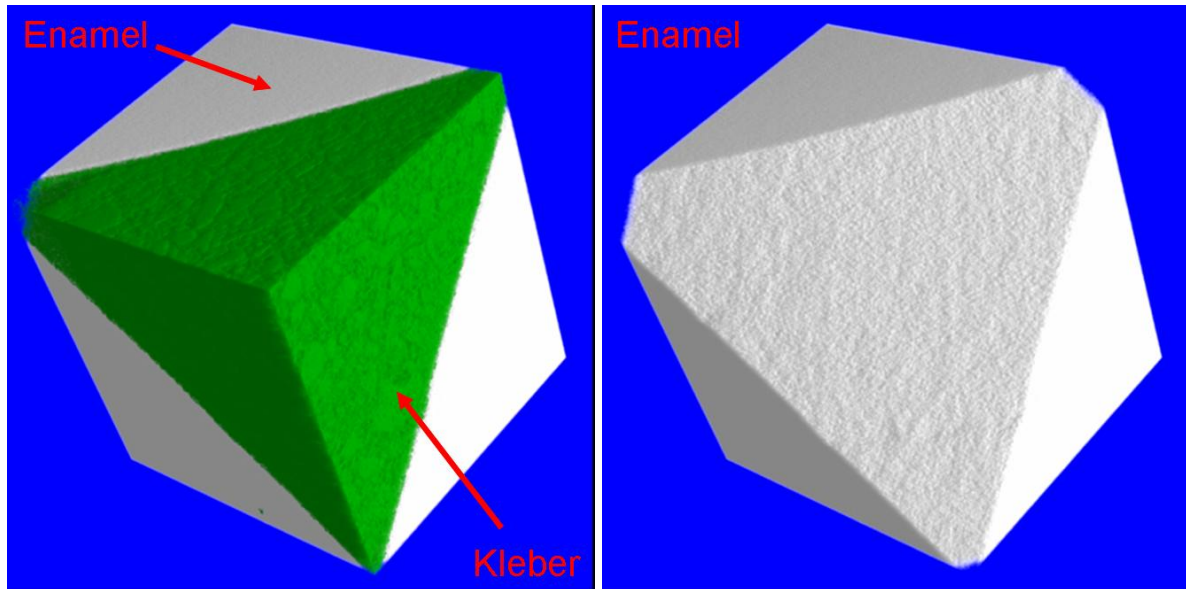
**Abbildung 2.7.3.1** links: Zahn mit metallischen Brackets; rechts: mikrotomographische Aufnahme eines Zahns mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Brackets

Obwohl die Aufnahmen keine ausreichende Auflösung für die Erkennung von Klebereinflüssen besaßen, waren sie trotzdem ein gutes Beispiel für die Möglichkeiten der mikrotomographischen Untersuchungen: Aufgrund von verschiedenen Absorptionen der Zahnmineralien Dentin und Enamel ließ sich der Aufbau des Zahns gut erkennen<sup>[66]</sup>.

Bei der zweiten Reihe wurden zur Vergrößerung der Auflösung kleinere Proben (mm-Maßstab) verwendet, die durch Aussägen von Stücken aus größeren Proben (ganzen Zähnen) hergestellt wurden. Aufgrund der kleineren Probengeometrie konnte wie bei vorigen Messungen wieder die Beamline BW2 mit einer maximalen Strahlenergie von 24 keV benutzt werden. Die dort erreichte Vergrößerung betrug 5.37 bei einer Auflösung von 1.7  $\mu\text{m}$ . Um Störungen zu vermeiden wurden bei dieser Testreihe auch keine Brackets mehr eingesetzt, nur die verschiedenen Kleber wurden auf die Zähne gegeben.

Auch bei dieser zweiten Messreihe zeigte keiner der fünf verwendeten Kleber einen erkennbaren Einfluss auf die Oberflächenstruktur des Zahns (siehe Abb. 2.7.3.2). Zur

Untersuchung wurden vertikale und andere Schnitte schräg zur Grenzschicht zwischen Zahn und Kleber gelegt, um festzustellen, ob der Kleber vielleicht in die Oberfläche eindringt oder diese angreift, was durch die unterschiedlichen Farben der verschieden stark absorbierenden Materialien sichtbar gewesen wäre.



**Abbildung 2.7.3.2:** Mikro-CT eines Zahns mit Kleber und ohne

Außerdem wurde per Software der schwächer absorbierende Kleber ausgeblendet, sodass die unter dem Kleber liegende Oberfläche klar abgebildet wurde (siehe Abb. 2.7.3.2 rechts). Durch Vergleich mit Oberflächenstellen ohne Kleber hätten Unterschiede zu den so sichtbar gemachten Stellen unter dem Kleber erkannt werden können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es bis zum jetzigen Zeitpunkt mittels Mikro-CT noch nicht möglich war, den existierenden Einfluss von organischem Kleber auf Zähne nachzuweisen. Mögliche Beweise liegen wahrscheinlich im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich, der mit dieser Methode noch nicht zugänglich ist.

## 2.7.4 Zusammenfassung

Im Hasylab wurden mikrotomographische Untersuchungen an verschiedenen Biomineralien (Schnecken, Rhopalien, Zähne) durchgeführt und folgendes festgestellt:

1. Mikro-CT Untersuchungen ermöglichen es, Biomineralien zu untersuchen ohne sie zu zerstören oder zu beschädigen.

2. 3-D Bilder (und Filme) geben vollständige Informationen über innere und äußere Strukturen der untersuchten Biomineralien.
3. Mit Mikro-CT Daten (2-D Bilder) lassen sich die Dimensionen der Probe und einzelner Details bestimmen.
  - a) Die Dicke der Schneckenschale ist altersabhängig
  - b) Die Größe von Statolithen in Rhopalien ist ortsabhängig
4. Unterschiedlich absorbierende Gewebe lassen sich je nach Wunsch transparent oder eingefärbt darstellen (Dentin und Enamel können unterschieden werden).
5. Ein Einfluss von organischem Kleber für orthodontische Brackets auf die Zahnoberfläche wurde nicht festgestellt.

### 3. Theoretische Grundlagen der Untersuchungsmethoden

#### 3.1 XRD (Röntgenpulverdiffraktometrie)

Die Röntgenpulverdiffraktometrie gehört zu den Beugungsmethoden bei denen elektromagnetische Wellen, in diesem Fall Röntgenstrahlung, an der Kristallstruktur des zu untersuchenden Körpers reflektiert bzw. gebeugt werden. Da die Wellenlänge von Röntgenstrahlung eine Dimension ähnlich des Abstands der Netzebenen der Kristallstruktur besitzt (einige Å), treten Interferenzphänomene wie bei der Beugung von sichtbarem Licht an Spalten und Doppelspalten auf. Die Winkel, unter denen dabei die Strahlung reflektiert werden kann, werden nach der Braggschen Gleichung berechnet:

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin \theta$$

Dabei ist  $n$  die Beugungsordnung,  $\lambda$  die Wellenlänge der Strahlung,  $d$  der Netzebenenabstand und  $\theta$  der Beugungswinkel. Beugung tritt nur auf, wenn die Braggsche Gleichung erfüllt ist. Da die Beugung dem Spiegelgesetz gehorcht, wonach Einfall- und Ausfallwinkel identisch sind, werden in Diffraktogrammen allgemein die Intensitäten gegen  $2\theta$  aufgetragen. Die Intensitäten der einzelnen Peaks hängen mit der Kristallinität der Probe zusammen. Bei sehr kristallinen und damit hochgeordneten Stoffen wiederholen sich die kristallographischen Netzebenen wieder und wieder, wenn die Strahlung in den Probenkörper eindringt. Deshalb wird von verschiedenen Netzebenen jeweils im gleichen Winkel gebeugt und die Intensität des Peaks für diesen Beugungswinkel steigt. Da bei Drehung der Probe die Strahlung an verschiedenen Netzebenen gebeugt wird, werden diese mit Hilfe der *Millerschen Indices* unterschieden, die in Klammern über den Peaks angegeben werden, z. B. (200).

Der Beugungswinkel selbst ist von der Elementarzelle abhängig, die für die jeweilige Kristallstruktur charakteristisch ist.

Mit Hilfe der Braggschen Gleichung lassen sich die Zellparameter (a, b, c) berechnen, es besteht jedoch auch die Möglichkeit diese über Datenbankvergleich zu erhalten und so die Kristallstruktur zu identifizieren. Auch verschiedene kristalline Phasen, wie in den untersuchten Calciumphosphaten HAP und  $\beta$ -TCP, lassen sich durch XRD-Messungen nachweisen.

Anhand des Signal-Rausch-Verhältnisses lassen sich Aussagen über die Kristallinität der untersuchten Probe machen. Ein hochkristalliner Stoff verursacht dünne wohldefinierte

Reflexe (siehe Kapitel 2.3.2), wohingegen amorphe Substanzen zu breiten oder gar keinen Peaks und starkem Hintergrundrauschen führen.

Die im Rahmen dieser Arbeit gezeigten Messungen wurden bei  $\lambda=1.541 \text{ \AA}$  (Cu  $K_{\alpha}$ -Linie) durchgeführt. Es wurden Pulvermessungen in Kapillaren mit abgekratzten Calciumphosphatbeschichtungen durchgeführt oder Diffraktogramme direkt von CaP auf Titan aufgenommen (Bruker AXS D8 Advance Instrument), wenn die Beschichtungen zum Abkratzen zu dünn waren.

### 3.2 IR (Infrarot-Spektroskopie)

Die Infrarotspektroskopie gehört zum Gebiet der Absorptionsspektroskopie. Durch Infrarotstrahlung können in Festkörpern, Flüssigkeiten und Gasen Bindungen zur Schwingung angeregt werden. Die dafür notwendige Energie bzw. Wellenlänge (in Spektren wird die reziproke Wellenzahl  $\text{cm}^{-1}$  angegeben) hängt von der Art der Bindung, also von den Bindungspartnern und in geringerem Maße von ihrer chemischen Umgebung, ab. Deshalb absorbieren identische Bindungen, wie z. B. O-H, P-O oder C=O, immer im gleichen Wellenlängenbereich und lassen sich anhand von Tabellenwerken identifizieren. Über IR-Spektroskopie lässt sich daher überprüfen, ob bei einer Synthese das korrekte Produkt hergestellt wurde und ob Verunreinigungen zurückgeblieben sind, da durch diese unerwartete Banden auftreten. Bei IR-Messungen entstehen keine scharfen Peaks wie bei XRD-Analysen, sondern verhältnismäßig breite Banden, was mit der gleichzeitigen Anregung von Rotationszuständen beim Versuch von Schwingungsanregungen zu tun hat. Durch den geringeren energetischen Abstand der Rotationszustände entstehen um den Anregungspeak der Schwingung mehrere kleine Peaks, die in hochauflösenden Festkörpermessungen sichtbar sind. In Standardmessungen lagern sich die einzelnen Peaks zu Banden zusammen.

Die Intensität von IR-Banden gibt keine Aussage über das Mengenverhältnis der einzelnen Strukturelemente zueinander, da sie von der eingesetzten Probenmasse abhängt. Anhand der Bandenbreite lassen sich jedoch Aussagen über die Kristallinität von festen Proben machen, wobei verbreiterte Banden auf amorphes Material hindeuten. Tauchen sehr intensive Banden im IR-Spektrum auf, so sind meistens auch weniger intensive Banden, die sogenannten Obertöne bei doppelter Wellenzahl vorhanden, die von einer höheren Schwingungsanregung herrühren.

Zur Messung von festen Proben werden zumeist Presslinge mit für IR-Strahlung durchsichtigen Substanzen, z. B. KBr, hergestellt, wobei nur sehr wenig Probe (wenige mg)

für eine Messung nötig ist. Flüssige Proben können direkt als Film zwischen NaCl-Fenstern gemessen werden.

Die in dieser Arbeit aufgenommenen IR-Spektren wurden mit einem FT-IR Spektrometer PE 1720X der Firma Perkin-Elmer erstellt. Der gemessene Wellenzahlbereich lag zwischen 400 und 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.3 REM (Raster-Elektronen-Mikroskopie)**

Zur Untersuchung besonders kleiner Oberflächenstrukturen im Bereich der Wellenlänge des sichtbaren Lichts (400-800 nm) ist die Lichtmikroskopie nicht mehr geeignet, da diese nur unscharf oder überhaupt nicht mehr zu erkennen sind. REM-Messungen lassen aufgrund der kleineren Elektronenwellenlängen Abbildungen von Strukturen bis zu wenigen 100 nm zu. Die Messung erfolgt über eine Abrasterung der Probenoberfläche mit einem fokussierten Strahl beschleunigter Elektronen (keV-Bereich) und anschließender Detektion der reflektierten bzw. sekundär emittierten Elektronen. Aus den Reflektionswinkeln und der Energiedifferenz zwischen eingestrahlt und reflektierten Elektronen ergibt sich ein Bild der Probenoberfläche. Nichtmetallische Proben müssen mit einer dünnen Gold- oder Kohlenstoffschicht bedampft bzw. „gesputtert“ werden, da ansonsten Oberflächenladungen die Messungen stören. REM-Untersuchungen finden im Hochvakuum ( $<10^{-2}$  Pa) statt, weil Luftmoleküle die Elektronen ablenken. Deswegen ist es problematisch Flüssigkeiten oder Lebewesen zu untersuchen. In den letzten Jahren wurden jedoch Methoden entwickelt, bei denen geringeres Vakuum ausreicht (ESEM).

Die im Rahmen dieser Arbeit aufgenommenen REM-Bilder wurden an einem LEO Gemini 1530 Gerät erstellt.

### **3.4 EDX (Energiedispersive Röntgenspektroskopie)**

EDX-Messungen werden zumeist zusätzlich zu REM-Messungen durchgeführt und geben Informationen über die elementare Zusammensetzung der Probenoberfläche. Sie beruht auf dem Prinzip, dass hochenergetische Elektronenstrahlung Elemente durch Ionisation zur Emission von Röntgenstrahlung anregt. Diese Röntgenstrahlung hat für das jeweilige Element eine charakteristische Wellenlänge.

Aufgrund des großen Durchmessers (ca. 5  $\mu\text{m}$ ) des fokussierten Elektronenstrahls kann es bei Messungen an kleinen Kristallen zu Fehlern kommen, da der Untergrund mit gemessen wird, bei gesputterten Proben ist zu bedenken, dass die aufgedampften Materialien ebenfalls detektiert werden.

Aus den Intensitäten der einzelnen EDX-Peaks lassen sich Aussagen über die Mengenverhältnisse der Elemente zueinander machen, wenn die Oberfläche wie bei polierten Metallen oder Keramiken sehr glatt ist. Bei Rauigkeiten können die Elektronen in verschiedenen Winkeln reflektiert werden, was zu Problemen bei der Bestimmung des Verhältnisses führt.

EDX-Messungen in dieser Arbeit wurden mit einem ISIS EDX System der Firma Link Analytical Oxford Instruments durchgeführt, welches zur Ausstattung des oben genannten LEO 1530 REM gehörte.

### **3.5 Mikrocomputertomographie (DESY Hamburg)**

Die Mikrocomputertomographie ( $\mu\text{-CT}$ ) ist eine Unterart der Computertomographie (CT), die in der Medizin weit verbreitet ist. Mikrocomputertomographie ermöglicht 3-dimensionale Aufnahmen von kleinen Strukturen (bis 50  $\mu\text{m}$ ) und kann deshalb u. a. zur Untersuchung von Biomineralien oder porösen Metallstrukturen verwendet werden. Besonders bei biologischen Proben ist es dabei von Vorteil, dass Aufnahmen von der inneren Struktur der Probe möglich sind, ohne diese aufzuschneiden und damit zu zerstören. Es ist im Gegensatz zu anderen Methoden (z.B. REM) nicht erforderlich, die zu untersuchenden Bestandteile aus ihrer Umgebung zu isolieren, so dass keine durch die Probenvorbereitung hervorgerufenen Artefakte entstehen können.

Bei mikrotomographischen Untersuchungen wird die Probe von einem Synchrotronstrahl durchstrahlt, dessen Energie so gewählt werden muss, dass die Unterschiede zwischen verschieden absorbierenden Probenbereichen erkennbar sind. Dabei wird die Probe rotiert, um 2-dimensionale Schichtaufnahmen aus verschiedenen Winkeln (0-180°, Schrittweite 0.25°) zu erhalten. Als Detektor fungiert eine CCD-Anlage, durch einen vorgeschalteten Leuchtschirm wird die gewünschte Vergrößerung erreicht. Mit Hilfe spezieller Computerprogramme werden die so erhaltenen 2-dimensionalen Daten in 3-dimensionale Bilder umgewandelt (Rekonstruktion) und später bearbeitet (VG-Studio Max 1.2).

Die verschieden absorbierenden Bestandteile der Probe können vom Programm nun getrennt voneinander dargestellt werden, z. B. Dentin und Enamel im Zahn. Es können auch beliebige



Schnitte durch die Probe gelegt und Filmsequenzen erstellt werden. Auch exakte Bestimmungen der Dimensionen einzelner Bestandteile sind möglich, wobei einschränkend zu sagen ist, dass mit steigender Probengröße die Auflösung sinkt.

Die in dieser Arbeit dargestellten  $\mu$ -CT-Untersuchungen wurden im Hamburger HASYLAB (DESY) an den Beamlines BW2 (10-22 keV) und W2 (22-55 keV) durchgeführt<sup>[287, 288]</sup>.

### 3.6 DMA (Dynamisch-Mechanische-Analyse)

Mit der DMA werden mechanische Belastungstests durchgeführt, indem Proben mit oszillierender Kraft belastet werden, wodurch oszillierende Verformungen induziert werden. So können mechanische Eigenschaften, wie Elastizitätsmodul, auftretende Kräfte und Amplitudenabweichungen bestimmt werden. Das Hooksche Gesetz dient zur Berechnung:

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad \sigma = \frac{F}{S} \quad \varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0}$$

mit  $\sigma$ : Spannung;  $E$ : Elastizitätsmodul;  $\varepsilon$ : Dehnung;  $F$ : Kraft;  $S$ : Querschnittsfläche;  $\Delta L$ : Längenänderung;  $L_0$ : Ausgangslänge

Der *Elastizitätsmodul* wäre bei einer ideal elastischen Probe sofort wie oben beschrieben zu berechnen, reale Festkörper sind jedoch anelastisch, d. h. die Auslenkung ist gegenüber der einwirkenden Kraft um  $\delta$  (Phasenverschiebung) verschoben. Daraus folgt ein komplexer Elastizitätsmodul, dessen Realteil die energiespeichernden Deformationsanteile enthält (*Speichermodul*  $E_S$ ) und dessen Imaginärteil die Deformationsanteile umfasst, bei denen mechanische Energie in Wärme umgewandelt wird (*Verlustmodul*  $E_V$ ). Ihr Quotient entspricht  $\tan(\delta)$  und ist ein Maß für die Dämpfung der Probe.

$$E = E_S + iE_V \quad \tan(\delta) = \frac{E_V}{E_S}$$

Durch Änderung von Oszillationsfrequenz und einwirkender Kraft können Ermüdungstests bis zur Zerstörung der Probe unternommen werden. Auch temperaturlöste Messungen sind möglich und damit die Beobachtung der Veränderung der mechanischen Eigenschaften bei fallender oder steigender Temperatur.

Die in dieser Arbeit verwendete DMA-Anlage DMA 242 der Firma Netzsch ermöglichte durch Umbau unterschiedliche Belastungsmodi wie Drei-Punkt-Biegung, Zweiarmlige Biegung, Einarmige Biegung, Scherung, Kompression und Penetration. Von diesen wurden die Einarmige Biegung (Drähte), Drei-Punkt-Biegung (Fußklammer) und Kompression (poröses NiTi) angewendet. Die möglichen Temperaturen lagen zwischen -196 °C (flüssiger

Stickstoff) und 600 °C. Belastungstests in verschiedenen Medien konnten mittels einer kleinen Wanne unternommen werden.

### 3.7 DSC (Differential Scanning Calometry)

DSC ist eine Methode zur Bestimmung des thermischen Verhaltens einer flüssigen oder festen Probe. Die zu untersuchende Probe wird abgewogen und in einen ebenfalls abgewogenen Aluminiumtiegel gegeben, dessen Deckel bei möglicher Gasentwicklung ein Loch besitzt, da er ansonsten bei Erwärmung platzen könnte. Die Probe wird zusammen mit einer Referenzprobe, einem leeren Aluminiumtiegel, mit konstanter Rate erhitzt oder abgekühlt. Ihr thermisches Verhalten wird mittels eines empfindlichen Thermoelements detektiert. Solange kein thermisch induzierter Prozess in der Probe abläuft, ist ihr Temperaturprofil identisch mit dem der Referenzprobe. Tritt in der Probe eine Änderung wie z. B. eine Phasenumwandlung ein, wird diese durch Abweichungen vom linearen Temperaturverlauf der Referenzprobe sichtbar. Dabei ist wichtig, dass Heiz- oder Kühlrate (typisch:  $\pm 5 \text{ K min}^{-1}$ ) so gewählt werden, dass kleine Abweichungen detektiert werden können, die dann als DSC-Kurve dargestellt werden. Aus diesen Kurven lassen sich die Enthalpien der ablaufenden Prozesse berechnen, indem die Fläche unter den auftretenden Peaks (Phasenumwandlung) integriert wird.

Das in dieser Arbeit verwendete Gerät war ein DSC 204 Phoenix der Firma Netzsch mit einem maximalen Temperaturbereich von -196 °C (flüssiger Stickstoff) bis 600 °C.

### 3.8 AAS (Atom-Absorptions-Spektroskopie)

Die AAS gehört zum Gebiet der Spurenanalyse, ihre Empfindlichkeit ist abhängig vom jeweiligen Element und kann bis in den sub-ppb-Bereich vordringen. Die AAS beruht auf dem Phänomen der Resonanzabsorption, welches dazu führt, dass Atome eingestrahktes Licht genau der Wellenlängen absorbieren, die sie unter thermischer Anregung auch selbst emittieren. Dazu wird eine Probe verdampft und von Licht genau des Elementes durchstrahlt, das detektiert werden soll. Aus der Intensität des eingestrahkten ( $I_0$ ) und die Probe durchlaufenen ( $I$ ) Lichts lässt sich mit Hilfe der Stoffkonstante  $\varepsilon$  (*Extinktionskoeffizient*) nach dem Lambert-Beerschen Gesetz die Konzentration  $c$  des fraglichen Elements im Probenraum (Schichtdicke:  $d$ ) errechnen.

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot c \cdot d}$$

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein empfindliches AAS-Gerät (Thermo Electron Corporation; M Series AA Spectrometer) verwendet.

### 3.9 Biologische Untersuchungen

Alle in dieser Arbeit gezeigten biologischen Untersuchungen wurden in der Abteilung für Experimentelle Unfallchirurgie im Krankenhaus Bochum-Bergmannsheil von Köller et. al. durchgeführt. Da die experimentelle Durchführung in keinem anderen Teil dieser Dissertation beschrieben ist, soll dies hier kurz geschehen.

Die für die Untersuchungen verwendeten Granulozyten (PMN, PBMC) wurden aus EDTA-anticoagulierte peripherem menschlichem Blut von gesunden Freiwilligen isoliert<sup>[293]</sup>. Verunreinigende Leukozyten wurden entfernt, bis die Reinheit der Granulozyten 95 % betrug. Zur Zählung der Zellen wurde eine Türk Färbe-Lösung (Sigma-Aldrich Chemie, Deisenhofen, Deutschland) verwendet. Die Zellvitalität wurde durch den Trypan-Blau (Sigma-Aldrich) Ausschlusstest gemessen. Die Zellkulturexperimente mit verschiedenen Proben in Zellmedien ( $10^6$  Zellen pro Versuch) wurden jeweils unter physiologischen Bedingungen (37 °C; 5 % CO<sub>2</sub> in feuchter Atmosphäre) und einer Dauer von 24 h durchgeführt. Dann wurde ein Teil der Lösung mittels ELISA<sup>[294]</sup> auf Cytokinfreisetzung hin untersucht, die Probe selbst wurde mittels REM (Morphologie) und Fluoreszenzmikroskopie<sup>[245, 295]</sup> (Zellvitalität) untersucht.

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ist ein Vergleichs-Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von Proteinen. Dazu wird eine Standardreihe des fraglichen Proteins angesetzt und eingefärbt, ebenso die zu untersuchenden Proben. Je nach Proteinkonzentration nimmt die Farbintensität zu und über den Vergleich mit den bekannten Konzentrationen der Standardreihe lässt sich die Konzentration der Probe bestimmen.

Mittels Fluoreszenzmikroskopie konnte durch den Einsatz fluoreszierender Farbstoffe bestimmt werden, wie groß der Prozentsatz der nach dem Versuch noch vitalen Zellen war. Mit dem Farbstoff Calcein-AM ( $14 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) wurden die lebendigen Zellen grün, mit Propidiumiodid ( $50 \text{ g mL}^{-1}$ ) die toten Zellen rot eingefärbt. Das verwendete Gerät war ein Photomicroscope 3, Zeiss, Oberkochen, Deutschland mit einer digitalen Kamera vom Typ Camedia C3030 Olympus, Hamburg, Deutschland.

## 4. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 459 (Formgedächtnistechnik) in Zusammenarbeit mit der Unfallchirurgie des Krankenhauses Bochum-Bergmannsheil durchgeführt. Bei diesem Projekt handelte es sich um die Herstellung und Charakterisierung von Nitinol®-Legierungen und deren Potential in medizinischen Anwendungen. Zu diesem Zweck war eine interdisziplinäre Zusammenarbeit nötig, um die komplexen Eigenschaften dieses neuen Biomaterials vollständig zu verstehen.

Im Zentrum dieser Arbeit stand die Entwicklung eines Beschichtungsverfahrens aus der Lösung zur Verbesserung der Biokompatibilität ohne Beeinträchtigung der besonderen Eigenschaften des Materials (Formgedächtniseffekt, Superelastizität). Zur Aufbringung einer Calciumphosphat-Beschichtung mittels des dip-coating-Verfahrens war die Aktivierung der Oberfläche notwendig, um eine chemische Bindung zwischen metallischer Oberfläche und aufgetragener Beschichtung zu erzeugen. Die so hergestellten Calciumphosphat-Beschichtungen wurden mit durch das klassische Plasma-Spray-Verfahren erzeugten Beschichtungen verglichen. Kristallographische, morphologische und biologische Tests zeigten die Vorteile des dip-coating-Verfahrens gegenüber der Plasma-Spray-Methode. Bei Kristallisation aus der Lösung entstanden nur definierte Calciumphosphat-Phasen und es ließen sich auch innere Oberflächen beschichten. Aufgrund der milden Bedingungen während der Kristallisation konnten durch Kokristallisation Wirkstoffe wie Antibiotika oder Knochenwachstumsfaktoren in die Beschichtung eingebracht werden. Biologische Untersuchungen zeigten eine Verbesserung der Biokompatibilität sowie eine Reduzierung der Nickelfreisetzung durch die Beschichtung. Neben NiTi wurden auch andere Implantatmaterialien (Stahl, Titan) mittels dip-coating-Verfahren beschichtet, was die weite Anwendbarkeit der Methode bewies.

Ein weiteres Projekt im Rahmen des SFB 459 war die Entwicklung einer NiTi-Fußklammer. In der vorliegenden Arbeit wurden morphologische und mechanische Untersuchungen unter physiologischen Bedingungen an Prototypen dieser Fußklammer ausgeführt. Kein dabei erzielt Ergebnis sprach gegen eine medizinische Anwendung.

Des Weiteren wurden auch poröse NiTi-Proben (Biorthex, Kanada) untersucht und nach dem dip-coating-Verfahren beschichtet. Es zeigten sich eine Interkonnektivität der Poren, eine dem Knochen ähnliche Elastizität und eine vollständige Beschichtung auch der inneren Oberfläche, was für die medizinische Verwendbarkeit des Materials spricht.

In Kooperation mit der Kieferorthopädie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf wurden Ermüdungstests an orthodontischen Drähten auf NiTi-Basis unter physiologischen

Bedingungen (Simulation der im Mund stattfindenden Prozesse) durchgeführt und deren mechanische Eigenschaften mit denen von Stahldrähten verglichen. Die dabei erhaltenen Ergebnisse können die Auswahl einer Drahtsorte für eine bestimmte Anwendung erleichtern. Zusätzlich wurden auch Nickelfreisetzungsuntersuchungen unter dynamischer Belastung unternommen, wobei ein deutlicher Einfluss der Belastung auf die Nickelfreisetzung nachgewiesen wurde. Zusätzlich wurde gezeigt, dass eine Oberflächennitridierung weder die Nickelfreisetzung verhinderte noch die Bruchfestigkeit erhöhte.

Neben den Arbeiten zu Nitinol<sup>®</sup> wurde auch die Kristallisation von Fluorapatit eingehend untersucht. Einflüsse von externen Parametern (pH-Wert, Übersättigung, Ionenstärke, Kristallisationszeit) sowie Zugabe von Fremdstoffen (Tenside, Polyelektrolyte) auf die entstehenden Morphologien wurden aufgezeigt. Die dabei erzielten Ergebnisse führten zur Entwicklung von Wachstumsmodellen für einige besonders interessante Morphologien des FAP (Hanteln, Kugeln). Außerdem wurde nachgewiesen, dass für das Entstehen dieser Morphologien keine organische Matrix benötigt wird, wie von anderen Autoren postuliert wurde.

Zum besseren Verständnis von Biomineralisationsprozessen wurden mikrotomographische Untersuchungen an Schneckengehäusen, Rhopalien und Zähnen unternommen. Die Ergebnisse sprachen für die Anwendbarkeit dieser Methode zur zerstörungsfreien Charakterisierung von Biomineralien.

## 5. Literatur

- [1] J. Nyvlt, J. Ulrich, *Admixtures in crystallization*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [2] C. Mayer, *Dissertation, TU Braunschweig* **1997**.
- [3] G. H. Nancollas, S. Zawacki, *J. Industrial Crystallization* **1984**, 84, 51.
- [4] H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**.
- [5] D. Volkmer, *Chem. unserer Zeit* **1999**, 33, 6.
- [6] A. Hesse, D. Heimbach, *World J. Urol.* **1999**, 17, 308.
- [7] R. Z. LeGeros, *Calcium phosphates in oral biology and medicine*, Karger, Basel, **1991**.
- [8] R. Z. LeGeros, in *Hydroxyapatite and related materials* (Eds.: P. W. Brown, B. Constantz), CRC Press, Boca Raton, **1994**, pp. 3.
- [9] D. McConnell, in *Apatite: its crystal chemistry, mineralogy, utilization, and biologic occurrences*, Springer, New York, **1973**, pp. 111.
- [10] D. K. Smith, in *Hydroxyapatite and related materials* (Eds.: P. W. Brown, B. Constantz), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, **1994**, pp. 29.
- [11] A. I. Angelov, B. V. Levin, Y. D. Chernenko, in *Phosphate ore. A reference book (in Russian)*, Nedra busyness centre, Moscow, **2000**, pp. 1.
- [12] A. F. Hollemann, E. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, deGruyter, Berlin, **1995**.
- [13] P. Koutsoukos, Z. Amjad, M. B. Tomson, G. H. Nancollas, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 1553.
- [14] J. D. Termine, R. A. Peckauskas, A. S. Posner, *Arch. Biochem. Biophys.* **1970**, 140, 318.
- [15] E. Fernandez, F. J. Gil, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, S. M. Best, *J. Mat. Sci. Mat. Med.* **1999**, 10, 169.
- [16] E. Fernandez, F. J. Gil, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, S. M. Best, *J. Mat. Sci. Mat. Med.* **1999**, 10, 177.
- [17] J. Lemaitre, A. A. Mirtchi, A. Mortier, *Silicates Ind. Ceram. Sci. Technol.* **1987**, 52, 141.
- [18] A. A. Mirtchi, J. Lemaitre, N. Terao, *Biomaterials* **1989**, 10, 475.
- [19] O. Bermúdez, M. G. Boltong, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *J. Mat. Sci. Mater. Med.* **1994**, 5, 144.
- [20] P. Becker, in *Fertilizer science and technology series*, Marcel Dekker, New York, **1989**, pp. 6.
- [21] M. Windholz, *The Merck Index, 10th ed.* Rahway, NJ: Merck and Co, 1983.
- [22] P. T. Cheng, *Rheum. Dis. Clin. North Am.* **1988**, 14, 341.
- [23] F. Abbona, H. E. Lundager Madsen, R. Boistelle, *J. Cryst. Growth* **1986**, 74, 581.
- [24] H. Newesely, *Mh. Chem.* **1967**, 98(2), 379.
- [25] A. O. McIntosh, W. L. Jablonski, *Analytical Chem.* **1956**, 28, 1424.
- [26] S. Takagi, L. C. Chow, K. Ishikawa, *Biomaterials* **1998**, 19, 1593.
- [27] H. Newesely, *Mh. Chem.* **1960**, 91, 1020.
- [28] W. E. Brown, J. R. Lehr, J. P. Smith, A. W. Frazier, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 5318.
- [29] R. Z. LeGeros, R. Kijkowska, J. P. LeGeros, *Scanning Electron Microscopy* **1984**, 4, 1771.
- [30] W. E. Brown, M. Mathew, M. S. Tung, *Prog. Crystal Growth Charact.* **1981**, 4, 59.

- [31] B. O. Fowler, E. C. Mareno, W. E. Brown, *Arch. Oral Biol.* **1966**, *11*, 477.
- [32] W. E. Brown, *Clin. Orthop. Rel. Res.* **1966**, *44*, 205.
- [33] R. Z. LeGeros, *J. Dent. Res.* **1974**, *53*, 45.
- [34] L. C. Chow, E. D. Eanes, in *Monographs in oral science, Vol. 18*, Karger, Basel, **2001**, p. 168.
- [35] A. A. Mirtchi, J. Lemaitre, E. Munting, *Biomaterials* **1989**, *10*, 634.
- [36] G. Daculsi, R. Z. LeGeros, E. Nery, K. Lynch, B. Kerebel, *J. Biomed. Mater. Res.* **1989**, *23*, 883.
- [37] I. Alam, I. Asahina, K. Ohmamiuda, S. Enomoto, *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54*, 129.
- [38] H. Yamamoto, S. Niwa, M. Hori, T. Hattori, K. Sawai, S. Aoki, M. Hirano, H. Takeuchi, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1587.
- [39] N. Eidelman, L. C. Chow, W. E. Brown, *Calcif. Tiss. Int.* **1987**, *40*, 71.
- [40] J. L. Meyer, E. D. Eanes, *Calcif. Tissue Res.* **1978**, *28*, 209.
- [41] R. E. Wuthier, G. S. Rice, J. E. Wallace, R. L. Weaver, R. Z. LeGeros, E. D. Eanes, *Calcif. Tissue Int.* **1985**, *37*, 401.
- [42] J. E. Harries, D. W. L. Hukins, C. Holt, S. S. Hasnain, *J. Cryst. Growth* **1987**, *84*, 563.
- [43] F. Peters, K. Schwarz, M. Epple, *Thermochim. Acta* **2000**, *361*, 131.
- [44] K. Kurashina, H. Kurita, M. Hirano, A. Kotani, C. P. Klein, K. de Groot, *Biomaterials* **1997**, *18*, 539.
- [45] E. C. Moreno, M. Kresak, R. T. Zahradnik, *Caries Res.* **1978**, *11*, 142.
- [46] Y. Doi, Y. Morwaki, T. Aoba, M. Okazaaki, J. Takahashi, K. Joshin, *J. Dent. Res.* **1982**, *61*, 429.
- [47] W. Suchanek, M. Yoshimura, *J. Mater. Res.* **1998**, *13*, 94.
- [48] L. L. Hench, *J. Am. Ceram. Soc.* **1998**, *81*, 1705.
- [49] E. Hayek, H. Newesely, *Inorg. Synth.* **1963**, *7*, 63.
- [50] J. C. Elliot, *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates, Vol. 18*, Elsevier, Amsterdam, **1994**.
- [51] J. E. Harries, D. W. L. Hukins, S. S. Hasnain, *J. Phys. C: Solid State Phys.* **1986**, *19*, 6859.
- [52] C. Hamanishi, K. Kitamoto, K. Ohura, S. Tanaka, Y. Doi, *J. Biomed. Mat. Res.* **1996**, *32*, 383.
- [53] C. B. Baddiel, E. E. Berry, *Spectrochim. Acta* **1966**, *22*, 1407.
- [54] J. Jowsey, *Clin. Orthop.* **1960**, *17*, 210.
- [55] A. S. Posner, *Clin. Orthop. Rel. Res.* **1985**, *2000*, 87.
- [56] S. V. Dorozhkin, E. I. Dorozhkina, F. Peters, M. Epple, *Eur. J. Trauma* **2002**, *28*, 115.
- [57] J. Wolf, *Virchows Arch.* **1870**, *50*, 389.
- [58] J. Wolf, 1892, A. Hirschwild, Springer-Verlag, Berlin, **1986**.
- [59] P. Fratzl, *Phys. unserer Zeit* **1999**, *30*, 196.
- [60] F. Nogata, *Materials Science Forum* **1999**, *308-311*, 331.
- [61] Y. Li, X. Zhang, W. Cheng, Y. Liu, et. al., *Birmingham, USA, Transactions of the 19th Annual meeting of society for biomaterials*, **1993**, 165.
- [62] W. A. Horton, *Growth Genet. Horm.* **1990**, *6*, 1.
- [63] K. Ishikawa, S. Takagi, L. C. Chow, Y. Ishikawa, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1995**, *6*, 528.
- [64] S. Weiner, T. Arad, I. Sabanay, W. Traub, *Bone* **1997**, *20*, 509.
- [65] S. Weiner, H. D. Wagner, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1998**, *28*, 271.
- [66] S. V. Dorozhkin, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 3130.
- [67] J. Carneiro, C. Leblond, *Exp Cell Res.* **1959**, *18*, 291.
- [68] N. Kurihara, C. Chenu, M. Miller, *Endocrin.* **1990**, *126*, 2733.
- [69] G. Hattersley, J. A. Kirby, T. J. Chambers, *Endocrin.* **1991**, *128*, 259.

- [70] M. D. Fallon, *Endocrine Control of Bone and Calcium Metabolism* **1984**, 144.
- [71] I. A. Silver, R. J. Murrills, D. J. Etherington, *Exp. Cell. Res.* **1988**, 175, 266.
- [72] S. L. Teitelbaum, M. M. Tondravi, F. P. Ross, *J. Leucocyte Biol.* **1997**, 61, 381.
- [73] R. Marcus, *Ann. Rev. Med.* **1987**, 38, 129.
- [74] M. Epple, P. Lanzer, *Z. Kardiol.* **2001**, 90 (Suppl. 3), III/2.
- [75] H. P. Wiesmann, L. Chi, U. Stratmann, U. Plate, H. Fuchs, U. Joos, H. J. Höhling, *Cell Tissue Res.* **1998**, 294, 93.
- [76] U. Stratmann, K. Schaarschmidt, H. P. Wiesmann, U. Plate, H. J. Höhling, *Cell Tissue Res.* **1996**, 284, 223.
- [77] G. Girasole, G. Passeri, S. Knutson, *J. Bone Min.* **1992**, 7, 96.
- [78] C. Gilbert, *Annu. Rev. Entomol.* **1994**, 39, 323.
- [79] K. M. Lyons, R. W. Pelton, B. L. M. Hogan, *Development.* **1990**, 109, 833.
- [80] A. H. Reddi, *Nature Biotechnology* **1998**, 16, 247.
- [81] V. Rosen, S. Thies, *Trend. Genet.* **1992**, 8, 97.
- [82] F. R. Bakwill, *Practical approach ser.* **1995**, 155.
- [83] J. M. Wozney, J. Caparella, V. Rosen, *Molecular basis of morphogenesis* **1993**, 221.
- [84] D. M. Kingsley, A. E. Band, J. M. Grubber, *Cell* **1992**, 71, 399.
- [85] J. A. Thomson, R. Becker, M. Durning, T. G. Golos, C. Harris, J. Kalishman, J. P. Hearn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 7844.
- [86] K. de Groot, ed. by P. Ducheyne and J. Lemons, in *Bioceramics: Material Characteristics Versus In Vivo Behavior*, *Annals of NY Acad. Sci.* **1988**, 523
- [87] S. H. Maxian, T. D. Stefano, M. C. Melican, M. L. Tiku, J. P. Zawadsky, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, 40, 171–179.
- [88] N. A. Nicola, *Guidebook to Cytokines and their Receptors*, Oxford University Press **1994**, 182-184
- [89] S. C. Manolagas, *Ann. New York Acad. Sci.* **1998**, 840, 194.
- [90] In: Thomson A, editor. *The cytokine handbook*, 3rd ed. San Diego (CA): Academic Press **1998**, 333-364.
- [91] C. M. Stanford, J. A. Morcunde, R. A. Brand, *J. Orthop. Res.* **1995**, 13, 664.
- [92] C. D. Toma, S. Ashkar, M. L. Gray, J. L. Shaffer, L. C. Gerstenfeld, *J. Bone Miner. Res.* **1997**, 12, 1626.
- [93] T. R. Pitt Ford, Elsevier: *Harty's Endodontics in Clinical Practice*, 5th Edition, Oxford, UK **2004**
- [94] L. C. Bonar, M. Shimizu, J. E. Roberts, R. G. Griffin, M. J. Glimcher, *J. Bone Miner. Res.* **1991**, 6, 1167.
- [95] J. A. Weatherell, C. Robinson, A. S. Hallsworth, *Caries Res.* **1972**, 6, 312.
- [96] S. Busch, U. Schwarz, R. Kniep, *Chem. Mater.* **2001**, 13, 3260.
- [97] C. Lundquist, *Odont Revy.* **1952**, 3, Suppl. 1
- [98] G. Daculsi, L. M. Kerebel, *Arch. Oral. Biol.* **1980**, 25, 145.
- [99] J. S. Rees, *Eur. J. Oral Sci.* **1998**, 106, 1028.
- [100] S. Hojo, M. Komatsu, R. Okuda, N. Takahashi, *J. Dent. Res.* **1994**, 73, 1853.
- [101] R. M. Stephan, *J. Am. Dent. Assoc.* **1940**, 27, 718.
- [102] M. U. Nylen, E. D. Evans, K. A. Omnel, *J. Cell. Biol.* **1963**, 18, 109.
- [103] G. Daculsi, J. Menanteau, L. M. Kerebel, D. Mitre, *Calcif. Tissue Int.* **1984**, 36, 550.
- [104] S. Mann, *Nature* **1993**, 365, 499.
- [105] A. L. Arsenault, B. W. Robinson, *Calcif. Tissue Int.* **1989**, 45, 111.
- [106] Y. Hayashi, *J. Electron Microsc. (Tokyo)* **1992**, 41, 387.
- [107] Y. Hayashi, *J. Electron Microsc. (Tokyo)* **1993**, 42, 141.
- [108] J. P. Simmer, A. G. Fincham, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **1995**, 6, 84.
- [109] T. G. Diekwisch, B. J. Berman, S. Ginters, H. C. Slavkin, *Cell. Tissue Res.* **1995**, 279, 149.



- [110] T. Aoba, *Anat. Rec.* **1996**, 245, 208.
- [111] P. Bodier-Houllé, P. Steuer, J. M. Meyer, L. Bigeard, F. J. G. Cuisinier, *Cell. Tissue Res.* **2000**, 301, 389.
- [112] S. Hojo, N. Takahashi, T. Yamada, *J. Dent. Res.* **1991**, 70, 182.
- [113] M. G. Buonocore, *J. Dent. Res.* **1955**, 34, 849.
- [114] J. M. Powers, H. B. Kim, D. S. Turner, *Semin. Orthod.* **1997**, 3, 147.
- [115] D. F. Williams, *Blood Compatibility* **1982**, 1.
- [116] V. T. Turitto, H. J. Weiss, *Science* **1980**, 207, 541.
- [117] D. K. Han, S. Y. Jeong, Y. H. Kim, B. G. Min, *J. Biomed. Sci. Polymer Edn* **1992**, 3, 229.
- [118] J. M. Anderson, K. M. Miller, *Biomaterials* **1984**, 5, 5.
- [119] D. F. Williams, *Elsevier: Progeress in Biomedical Engineering*, Amsterdam **1987**, 4.
- [120] J. Charnley, *J. Bone Jt. Surg.* **1960**, 42B, 28.
- [121] D. F. Williams, *Eng. Med.* **1981**, 10(1), 5.
- [122] P. A. Revell, N. Al-Saffer, A. Kobayashi, *Proc. Inst. Mech. Eng.* **1997**, 211, 187.
- [123] T. Murakami, J. Nakamura, T. Kageura, H. Matsuda, M. Yoshikawa, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2000**, 48(11), 1720.
- [124] D. F. Williams, in *Materials Science and Technology, Vol. 14* (Eds.: R. W. Cahn, P. Haasen, E. J. Kramer), VCH, Weinheim, **1992**, p. 469.
- [125] K. CPAT, Patra D, Wolke JGC, J. M. A. D. Blicck-Hogerworst, K. de Groot, *Biomaterials* **1994**, 15, 146.
- [126] K. Soballe, E. S. Hansen, H. B. Brockstedt-Rasmussen, C. Bunger, *J. Bone Jt. Surg.* **1993**, 75B, 270.
- [127] M. Jarcho, *Clin. Orthop.* **1981**, 157, 259.
- [128] G. Daculsi, *Medical and Biological Engineering and Computing (Suppl. 2)* **1999**, 37, 1598.
- [129] R. Thull, *Jahrbuch für Orale Implantologie* **1994**, 55.
- [130] D. Tadic, F. Beckmann, T. Donath, M. Epple, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.* **2004**, 35, 240.
- [131] A. Moroni, C. Faldini, F. Vannini, *Bioceramics* **2001**, 13, 1037.
- [132] B. Kasemo, J. Lausmaa, *Environ. Health Perspect.* **1994**, 102, 41.
- [133] K. E. Healy, P. Ducheyne, *Biomaterials* **1992**, 13, 553.
- [134] J. Y. Martin, Z. Schwartz, T. W. Hummert, *J. Biomed. Mater. Res.* **1995**, 29, 389.
- [135] K. Kieswetter, Z. Schwartz, T. W. Hummert, *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, 32, 55.
- [136] A. Huttenlocher, R. R. Sandborg, A. F. Horwitz, *Curr. Opin. Cell. Biol.* **1995**, 7, 697.
- [137] D. O. Schlaepfer, T. Hunter, *Trends Cell. Biol.* **1998**, 8, 151.
- [138] G. Weissman, J. E. Smolen, H. M. Korchak, *New Engl. J. Med.* **1980**, 303, 27.
- [139] P. A. Jimenez, S. E. Jimenez, *Am. J. Surg.* **2004**, 187, 56S.
- [140] R. Thull, *Dtsch. Zahnarztl.* **1991**, 46(11), 712.
- [141] A. F. Recum, *Handbook of Biomaterials Evaluation*, New York: Macmillan Publishing **1986**.
- [142] K. Schwarz, M. Epple, *Macromol. Rapid Commun.* **1998**, 19, 613.
- [143] M. R. Urist, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81, 371.
- [144] J. A. Sparado, *J. Inorg. Biochem.* **1991**, 42 (4), 294.
- [145] N. Grier, ed. by S. S. Block, *Silver and its compounds, In: Disinfection, sterilization and preservation*, Lea & Febiger, Philadelphia, Pa **1977**, 68-72.
- [146] E. Wintermantel, S. W. Ha, *Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen*, Springer, **1998**.
- [147] J. M. Rueger, *Orthopäde* **1998**, 27, 72.
- [148] B. W. Wippermann, *Hydroxylapatitkeramik als Knochenersatzwerkstoff*, Springer, Berlin, **1996**.
- [149] C. Durucan, P. W. Brown, *J. Biomed. Mat. Res.* **2000**, 51, 726.

- [150] O. A. Trentz, R. Zellweger, M. G. Amgwerd, G. K. Uhlschmid, *Unfallchirurg* **1997**, 100, 39.
- [151] W. Linhart, N. M. Meenen, J. M. Rueger, *OP-Journal* **2000**, 3, 294.
- [152] K. A. Gross, E. Ezerietis, *J. Biomed. Mat. Res.* **2003**, 64A, 672.
- [153] L. L. Hench, J. Wilson, *Introduction to Bioceramics, World Scientific, Chapter 1, Singapore* **1993**.
- [154] A. Piatelli, G. Podda, A. Scarano, *Biomaterials* **1996**, 17, 711.
- [155] T. Tateishi, H. Yunoki, *Clin. Mater.* **1993**, 12, 219.
- [156] C. P. Klein, P. Patka, W. den Hollander, *Biomaterials* **1989**, 10, 59.
- [157] H. W. Denissen, K. de Groot, A. A. Denissen, J. G. C. Wolke, J. G. J. Peelen, H. J. van Dijk, A. P. Gehring, P. J. Kloppe, *Sci. Ceram.* **1980**, 10, 63.
- [158] P. Li, C. Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nananishi, N. Soga, K. de Groot, *J. Biomed. Mater. Res.* **1994**, 28, 7.
- [159] H. Denissen, C. Mangano, G. Cenini, *Hydroxylapatite implants*, Piccin Nuova Libreria, India, SPA, **1985**.
- [160] L. L. Hench, Greedlee, *Biomater. Res. Mater. Symp.* **1972**, 2, 117.
- [161] L. L. Hench, *J. Am. Ceram. Soc.* **1991**, 74, 1487.
- [162] H. R. Stanley, M. B. Hall, F. Colaizzi, A. E. Clark, *J. Prosthet. Dent.* **1987**, 58, 607.
- [163] J. Wilson, S. B. Low, *J. Appl. Biomater.* **1992**, 3, 123.
- [164] K. J. L. Burg, S. W. Shalaby, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **1997**, 9, 15.
- [165] J. C. Middleton, A. J. Tipton, *Biomaterials* **2000**, 21, 2335.
- [166] Y. H. An, S. K. Woolf, R. J. Friedman, *Biomaterials* **2000**, 21, 2635.
- [167] J. Huaxia, C. B. Ponton, P. M. Marquis, *J. Mater. Sci.; Mater. Med.* **1992**, 3, 283.
- [168] R. van Noort, *J. Mater. Sci.* **1987**, 22, 3801.
- [169] J. Beddoes, K. Bucci, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1999**, 10, 389.
- [170] A. Bartolozzi, J. Black, *Biomaterials* **1985**, 6, 2.
- [171] L. D. Dorr, R. Bloebaum, J. Emmanuel, R. Meldrum, *Clin. Orthop. Rel. Res.* **1990**, 261, 82.
- [172] R. Deutman, T. J. Rulder, R. Brian, J. P. Nater, *J. Bone Jt. Surg.* **1997**, 59A, 862.
- [173] T. M. Lee, E. Chang, C. Y. Yang, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1999**, 10, 541.
- [174] D. F. Williams, *Annual Review of Materials Science* **1976**, 6, 237.
- [175] M. H. Huo, E. A. Salvati, J. Lieberman, F. Betts, M. Bansal, *Clin. Orthop. Rel. Res.* **1992**, 276, 157.
- [176] M. Pourbaix, *Biomaterials* **1984**, 5, 122.
- [177] M. Pourbaix, *Atlas of Electrochemical Equilibria in Aqueous Solutions, National Association of Corrosion Engineers, Houston, Texas* **1974**, 140.
- [178] R. Thull, *Z. Mitteilungen* **1992**, 82, 39.
- [179] J. Lausmaa, M. Ask, U. Rolander, B. Kasemo, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* **1989**, 110, 647.
- [180] E. W. Collings, *The Physical Metallurgy of Titanium Alloys, American Society for Metals, Cleveland, Metals Park, Ohio* **1984**.
- [181] P. Tengvall, I. Lundström, L. Sjöqvist, *Biomaterials* **1989**, 10, 166.
- [182] L. Sennerby, L. E. Ericson, P. Thomsen, U. Lekholm, P. Astrand, *J. Dent. Res.* **1992**, 71, 364.
- [183] Y. Ikarashi, T. Tsuchiya, A. Nakamura, M. Takahashi, H. Doi, E. Kobayashi, T. Yoneyama, H. Hamanaka, 5th World Biomaterials Congress, Toronto, Canada **1996**.
- [184] P. Kovacs, G. A. Davidson, *Amer. Society for Testing and Materials, Ann Harbor, USA* **1996**, 163.
- [185] G. A. Parks, *Chem. Rev.* **1965**, 65, 177.
- [186] M. A. Imam, A. C. Fraker, *Titanium Alloys as Implant Materials*, S. A. Brown and J. E. Lemons, eds., *The Material and Biological Issues* **1996**.

- [187] M. Long, H. J. Rack, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1621.
- [188] E. P. S. Alcatara, L. Schaffer, W. D. Belengero, N. S. Reis, *Medical and Biological Engineering and Computing (Suppl. 2)* **1999**, *37*, 192.
- [189] B. D. Boyan, T. W. Hummert, D. D. Dean, Z. Schwartz, *Biomaterials* **1996**, *17*, 137.
- [190] Z. Schwartz, J. Y. Martin, D. Dean, D. L. Simpson, *J. Biomed. Mat. Res.* **1996**, *30*, 145.
- [191] B. D. Boyan, T. W. Hummert, K. Kieswetter, D. Schraub, D. D. Dean, Z. Schwartz, *Cells Mater.* **1995**, *5*, 323.
- [192] J. E. Davies, R. Chernecky, B. Lowenberg, A. Shiga, *Cell Mater.* **1991**, *1*, 3.
- [193] B. Lowenberg, R. Chernecky, A. Shiga, J. E. Davies, *Cell Mater.* **1991**, *1*, 177.
- [194] L. Yahia, *Shape memory implants*, Springer, Berlin, **2000**.
- [195] R. De Batist, *Phys. France* **1983**, *44(Suppl. 12)*, 39.
- [196] H. Funakubo, *Gordon and Breach, New York* **1987**.
- [197] R. P. Kusy, A. M. Stush, *Dent. Mater.* **1987**, *3*, 207.
- [198] O. Prymak, A. Klocke, B. Kahl-Nieke, M. Epple, *Mat. Sci. Eng.* **2004**, *A 378*, 110
- [199] L. G. Machado, M. A. Savi, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2003**, *36*, 683.
- [200] C. J. Burstone, B. Qin, J. Y. Morton, *Am. J. Orthod.* **1985**, *87*, 445.
- [201] V. E. Gunther, *Atlas, Northampton, Massachusetts* **2002**.
- [202] L. S. Barouk, *Foot Dis.* **1994**, *1*, 79.
- [203] A. Kapanen, J. Ryhänen, A. Danilov, J. Tuukkanen, *Biomaterials* **2001**, *22*, 2475.
- [204] A. Kapanen, A. Danilov, P. Lehenkari, J. Ryhänen, T. Jämsä, J. Tuukkanen, *Biomaterials* **2002**, *23*, 3733.
- [205] S. Kustov, S. Golyandin, K. Sapozhnikov, J. van Humbeeck, R. De Batist, *Acta Mater.* **1998**, *46*, 5117.
- [206] M. Assad, A. V. Chernyshov, P. Jarzem, M. A. Leroux, C. Coillard, S. Charette, C. H. Rivard, *J. Biomed. Mat. Res. Appl. Biomater.* **2003**, *64B*, 121.
- [207] D. J. Wever, A. G. Veldhuizen, M. M. Sanders, J. M. Schakenraad, J. R. van Horn, *Biomaterials* **1997**, *18*, 1115.
- [208] M. Assad, N. Lemieux, C. H. Rivard, L. Yahia, *Biomed. Mater. Eng.* **1999**, *9*, 1.
- [209] S. Rhalmi, M. Odin, M. Assad, M. Tabrizian, C. H. Rivard, L. Yahia, *Biomed. Mater. Eng.* **1999**, *9*, 151.
- [210] R. A. Ayers, S. J. Simske, T. A. Bateman, A. Petkus, R. L. C. Sachdeva, V. E. Gyunter, *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *45*, 42.
- [211] J. C. Wataha, P. E. Lockwood, M. Marek, M. Ghazi, *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *45*, 251.
- [212] L. U. Lahoda, M. Köller, G. Kalkofen, G. Muhr, *Unfallchirurg* **1999**, *275*, 277.
- [213] J. Ryhänen, M. Kallioinen, J. Tuukkanen, P. Lehenkari, J. Junila, E. Niemelä, P. Sandvik, W. Serlo, *Biomaterials* **1999**, *20*, 1309.
- [214] C. C. Shih, S. J. Lin, Y. L. Chen, Y. Y. Su, S. T. Lai, G. J. Wu, C. F. Kwok, K. H. Chung, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *52*, 395.
- [215] B. S. Chang, C. K. Lee, K. S. Hong, H. J. Youn, H. S. Ryu, S. S. Chung, K. W. Park, *Biomaterials* **2000**, *21*, 1291.
- [216] B. Flautre, M. Descamps, C. Delecourt, M. C. Blary, P. Hardouin, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2001**, *12*, 679.
- [217] M. Assad, F. Likibi, P. Jarzem, M. A. Leroux, C. Coillard, C. H. Rivard, *Mat-wiss u Werckstofftech* **2004**, *35*, 219.
- [218] V. Gunter, *Delay law and new class of materials and implants in medicine, STT/Scientific and Technical Translations* **2000**.
- [219] A. Moroni, V. L. Caja, E. L. Egger, et. al., *Biomaterials* **1994**, *15*, 926.
- [220] R. G. T. Geesink, *Clin. Orthop. Rel. Res.* **1990**, *261*, 39.
- [221] G. Daculsi, J. M. Boulter, R. Z. LeGeros, *Int. Rev. Cytology* **1997**, *172*, 129.

- [222] A. Moroni, C. Faldini, S. Marchetti, M. Manca, V. Consoli, S. Giannini, *J. Bone & Joint Surgery* **2001**, 83A, 5, 717
- [223] B. Yang, J. Chen, J. Feng, X. Zhang, *Bioceramics* **2001**, 13, 399.
- [224] K. de Groot, W. JGC, J. A. Jansen, *Proc. Inst. Mech. Eng., Part H* **1998**, 212, 137.
- [225] S. Ban, S. Maruno, *Biomaterials* **1995**, 16, 977.
- [226] P. Ducheyne, W. Van. Raemdonck, J. C. Heughebaert, *Biomaterials* **1986**, 7(2), 97.
- [227] S. Rößler, A. Sewing, M. Stölzel, R. Born, D. Scharnweber, M. Dard, H. Worch, *J. Biomed. Mat. Res.* **2003**, 64A, 655.
- [228] W. R. Lacefield, *Ann. NY Acad. Sci.* **1988**, 523, 72.
- [229] K. de Groot, C. P. A. T. Klein, J. G. C. Wolke, J. M. A. de Blick-Hogerworst, *CRC handbook of bioactive ceramics*, ed. by T. Yamamuro et al., **1990**, 133
- [230] G. Willmann, *Adv. Eng. Mater.* **1999**, 1, 95.
- [231] S. D. Cook, K. A. Thomas, J. F. Kay, M. Jarcho, *Clin. Orthop. Rel. Res.* **1988**, 232, 225.
- [232] W. JGC, J. M. A. De Blick-Hogerworst, W. J. A. Dhert, C. P. Klein, K. De Groot, *J. Thermal Spray Technol.* **1992**, 1, 75.
- [233] Y. Z. Yang, J. L. Ong, *J. Biomed. Mat. Res.* **2003**, 64A, 509.
- [234] L. Sun, C. C. Berndt, K. A. Khor, H. N. Cheang, K. A. Gross, *J. Biomed. Mat. Res.* **2002**, 62, 228.
- [235] A. K. Lynn, D. L. DuQuesnay, *Biomaterials* **2002**, 23, 1937.
- [236] F. J. Kummer, W. L. Jaffe, *J. Appl. Mater.* **1992**, 3, 211.
- [237] T. Kokubo, *Acta Mater.* **1998**, 46, 2519.
- [238] H. M. Kim, T. Kokubo, T. Nakamura, *Ceram. Soc. Japan* **1997**, 105, 111.
- [239] F. Barrere, P. Layrolle, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, *Bone* **1998**, 25, 107S.
- [240] P. Habibovic, F. Barrère, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, P. Layrolle, *J. Am. Ceram. Soc.* **2002**, 85, 517.
- [241] H. M. Kim, T. Kokubo, T. Nakamura, *Biomed. Mater. Res.* **1997**, 38, 121.
- [242] H. M. Kim, T. Nakamura, T. Kokubo, *Biomed. Mater. Res.* **1996**, 32, 409.
- [243] T. Kokubo, F. Miyaji, H. M. Kim, *J. Am. Ceram. Soc.* **1996**, 79, 1127.
- [244] S. Ban, M. Matsuura, N. Arimoto, J. Hayashizaki, Y. Itoh, J. Hasegawa, *Dent. Mater.* **1993**, 12, 106.
- [245] J. Choi, D. Bogdanski, M. Köller, S. A. Esenwein, D. Müller, G. Muhr, M. Epple, *Biomaterials* **2003**, 24, 3689.
- [246] S. Yamada, T. Nakamura, T. Kokubo, *Biomed. Mater. Res.* **1994**, 28, 1357.
- [247] R. Z. LeGeros, L. M. Silverstone, G. Daculsi, L. M. Kerebel, *J. Dent. Res.* **1983**, 62, 138.
- [248] V. Imbeni, C. Martini, D. Prandstraller, G. Poli, C. Trepanier, T. W. Duerig, *Wear* **2003**, 254, 1299.
- [249] T. Deguchi, M. Ito, A. Obata, Y. Koh, T. Yamagishi, Y. Oshida, *J. Dent. Res.* **1996**, 75, 1491.
- [250] W. Limberg, E. Aust, R. Gerling, B. Oger, T. Ebel, *Euro PM2004 Conference Proceedings* **2004**, 4, 457.
- [251] B. Y. Li, L. J. Rong, Y. Y. Li, V. E. Gjunter, *J. Mater. Res.* **2000**, 15, 10.
- [252] S. E. Khier, W. A. Brantley, R. A. Fournelle, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* **1988**, 93, 206.
- [253] B. R. Williams, A. A. Caputo, S. J. Chanconas, *Angle Orthod.* **1978**, 48, 235.
- [254] R. W. Kohl, *Angle Orthod.* **1964**, 34, 37.
- [255] J. Jerosch, A. Bader, G. Uhr, *Knochen*, Thieme, Stuttgart, **2002**.
- [256] H. Wahlig, R. Bergmann, E. Dingeldein, *Unfallchirurgie* **1977**, 4.
- [257] J. Charnley, *Clin. Orthop.* **1991**, 87, 167.
- [258] A. Kovalchuk, W. Fisher, M. Epple, *Macromol. Biosci.* **2005**, 5, 289.

- [259] J. G. Stalker, D. J. Feenstra, et. al., *Drug. Metab. Dispos.* **2001**, 29, 1136.
- [260] N. M. van Os, J. R. Haak, L. A. M. Rupert, *Physico-chemical properties of selected anionic, cationic and nonionic surfactants*, Elsevier, Amsterdam, **1993**.
- [261] S. Albeck, L. Addadi, S. Weiner, *Connective Tissue Res.* **1996**, 35, 365.
- [262] R. Kniep, S. Busch, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2788.
- [263] I. Leveque, M. Cusack, S. A. Davis, S. Mann, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 903.
- [264] S. Busch, U. Schwarz, R. Kniep, *Adv. Funct. Mater.* **2003**, 13, 189.
- [265] F. Peters, M. Epple, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 3585.
- [266] F. Peters, M. Epple, *Freiberger Forschungshefte* **2002**, E3, 104.
- [267] A. R. Hagen, *J. Dent. Res.* **1975**, 54, 384.
- [268] D. Tang, L. Wang, C. A. Orme, T. Bonstein, P. J. Bush, G. H. Nancollas, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 2751.
- [269] F. Barrère, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, P. Layrolle, *Biomaterials* **2002**, 23, 1921.
- [270] S. Yamada, D. Heymann, J. M. Bouler, G. Daculsi, *Biomaterials* **1997**, 18, 1037.
- [271] D. L. Kopperdahl, E. F. Morgan, T. M. Keaveny, *J. Orthop. Res.* **2002**, 20, 801.
- [272] J. S. Kim, J. H. Kan, S. B. Kang, K. S. Yoon, Y. S. Kwon, *Adv. Eng. Mater.* **2004**, 6, 403.
- [273] S. R. Drake, D. M. Wayne, J. M. Powers, *Am. J. Orthod.* **1982**, 82, 206.
- [274] M. K. Asgharnia, W. A. Brantley, *Am. J. Orthod.* **1986**, 89, 228.
- [275] N. Schiff, B. Grosogeat, M. Lissac, F. Dalard, *Biomaterials* **2002**, 23, 1995.
- [276] E. H. Roos, K. J. Donly, *Pediatr. Dent.* **2002**, 24, 350.
- [277] B. Mohlin, H. Müller, J. Ödman, B. Thilander, *Eur. J. Orthod.* **1991**, 13, 386.
- [278] E. M. H. Al-Waheidi, *Quintessence Int.* **1995**, 26, 385.
- [279] C. L. Dunlap, S. K. Vincent, B. F. Barker, *J. Am. Dent. Assoc.* **1989**, 118, 449.
- [280] W. Jia, M. W. Beatty, R. A. Reinhardt, T. M. Petro, D. M. Cohen, C. R. Maze, E. A. Strom, M. Hoffman, *J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater.* **1999**, 48, 488.
- [281] R. J. Moore, J. T. F. Watts, J. A. A. Hood, D. J. Burritt, *Eur. J. Orthod.* **1999**, 21, 249.
- [282] E. Angelini, F. Zucchi, *Surface Technol.* **1984**, 21, 179.
- [283] G. Rondelli, B. Vicentini, *Biomaterials* **1999**, 20, 785.
- [284] U. Bonse, F. Busch, *Prog. Biophys. molec. Biol.* **1996**, 65, 133.
- [285] S. Nuzzo, F. Peyrin, P. Cloetens, J. Baruchel, G. Boivin, *Med. Phys.* **2002**, 29, 2672.
- [286] S. R. Stock, D. Blackburn, M. Gradassi, H. G. Simon, *Development Dynamics* **2003**, 226, 410.
- [287] F. Beckmann, U. Bonse, T. Biermann, *Proc. SPIE* **1999**, 3772, 179.
- [288] T. Donath, F. Beckmann, R. G. J. C. Heijkants, O. Brunke, A. Schreyer, *SPIE Proc.* **2004**, 5535, 775.
- [289] S. E. Dowker, J. C. Elliot, G. R. Davis, R. M. Wilson, P. Cloetens, *Caries Res.* **2004**, 38, 514.
- [290] J. H. Kinney, R. K. Nalla, J. A. Pople, T. M. Breunig, R. O. Ritchie, *Biomaterials* **2005**, 26, 3363.
- [291] D. A. Ashbridge, M. S. Thorne, M. L. Rivers, J. C. Muccino, P. A. O'Day, *Computers and Geoscience* **2003**, 29, 823.
- [292] J. C. Marxen, W. Becker, D. Finke, B. Hasse, M. Epple, *J. Molluscan Studies* **2003**, 69, 113.
- [293] M. Köller, P. Wachtler, A. David, G. Muhr, W. König, *Inflammation* **1997**, 21, 463.
- [294] D. Bogdanski, M. Epple, S. A. Esenwein, G. Muhr, V. Petzoldt, O. Prymak, K. Weinert, M. Köller, *Mater. Sci. Eng. A* **2003**, 378, 527.
- [295] D. Bogdanski, S. A. Esenwein, O. Prymak, M. Epple, G. Muhr, M. Köller, *Biomaterials* **2004**, 25, 4627.

## 6. Verzeichnisse

### 6.1 Gefahrstoffe und Entsorgung

Chemikalie	Gefahrstoffsymbol:	R-Sätze	S-Sätze	Entsorgung
Aceton	F, Xi	R 11-36-66-67	S 9-16-26	E 1
Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	--	--	--	E 14
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Xi	R 36	S 22-24	E 14
CTAB	Xn, N	R 22-36/37/38-50/53	S 26-39-61	E 3
Ethanol	F	R 11	S 7-16	E 2
HCl (37 % in H <sub>2</sub> O)	C	R 34-37	S 26-36/37/39-45	E 12
HNO <sub>3</sub> (65 % in H <sub>2</sub> O)	C	R 35	S-23.2-26-36/37/39-45	E 12
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Xn	R 22-41	S 26-39	E 22
KCl	--	--	--	E 14
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	--	--	--	E 14
KF	T	23/24/25	26-45	E 23
KOH	C	R 35	S 26-37/39-45	E 13
KSCN	Xn	R 20/21/22-32-52/53	S 13-61	E 14
NaCl	--	--	--	E 14
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	Xn	R 22	S -	E 1
NaHCO <sub>3</sub>	--	--	--	E 14
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	--	--	--	E 14
Na <sub>2</sub> S·9H <sub>2</sub> O	C, N	R 31-34-50	S 26-45-61	
SDS	Xn, F	R 11-21/22-36/37/38	S 26-36/37	E 3
Triton X-100	Xn	R 22-41	S 24-26-39	

#### Definition der Abfallkategorien:

- A: Halogenfreie organische Lösungsmittel und Lösungen organischer Stoffe.
- B: Halogenhaltige organische Lösungsmittel und Lösungen organischer Stoffe, die Halogene enthalten.
- C: Feste organische Laborchemikalien-Rückstände.
- D: Salzlösungen; ein pH-Wert von 6 - 8 ist einzustellen.
- E: Giftige anorganische Rückstände sowie Schwermetall-Salze und ihre Lösungen.
- F: Giftige entzündliche Verbindungen.

## 6.2 Veröffentlichungen

1. Synthese zweiphasige Kalziumphosphatkeramik mit dem Einstellphaseverhältnis" S. S. Syman, N. W. Tkatschenko, W. I. Gluscho, Je. W. Schurinowa, O. N. Primak. Mitteilungen der W.N. Karasin Nationalen Universität Charkiw; Nr. 516, Serie "Physik", Heft 5, 2001, S. 133-136.
2. "Inhibition of PMN apoptosis after adherence to dip-coated phosphate surfaces on a NiTi shape memory alloy" D. Bogdanski, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Epple, M. Koeller (*Biomaterials* 25 (2004) 4627-4632)
3. "Fatigue of orthodontic nickel-titanium (NiTi) wires in different fluids under constant mechanical stress". O. Prymak, A. Klocke, B. Kahl-Nieke, M. Epple (*Mater. Sci. Eng. A* 378 (2004) 110-114)
4. "NiTi shape memory alloys coated with calcium phosphate by plasma-spraying. Chemical and biological properties" O. Prymak, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, M. Koeller, M. Epple (*Mater. Wiss. Werkstofftechn.* 2004, 35, No. 5, 346-351)
5. "Biokompatibilität von calciumphosphat-beschichteten und von geometrisch strukturierten nickel-titanium (NiTi) durch in vitro testmethoden" D. Bogdanski, M. Epple, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Koeller (*Mater. Sci. Eng. A* 378 (2004) 527-531)
6. "Hart wie die Natur. Knochenimplantate aus Calciumphosphat". M Epple, C. Schiller, W. Meyer-Zaika, O. Prymak, T. Welzel. (*Forum Forschung* 2004/2005 Essen, 22-26)
7. "Calcium sulphate hemihydrate is the inorganic mineral in statoliths of scyphozoan medusae (Cnidaria)". A Becker, I. Sötje, C. Paulmann, F. Beckmann, T. Donath, R. Boese, O. Prymak, H. Tiemann, M. Epple. (*Dalton Trans.* 2005, 1545-1550)
8. "Morphological characterisation and in vitro biocompatibility of a porous nickel-titanium alloy". O. Prymak, D. Bogdanski, M. Köller, S.A. Esenwein, G. Muhr, F. Beckmann, T. Donath, M. Assad, M. Epple. (*Biomaterials* 2005, 26, 5801-5807)
9. "Application of synchrotron radiation-based computer microtomography (SR $\mu$ CT) to biominerals". O. Prymak, H. Tiemann, I. Sötje, J. C. Marxen, A. Klocke, B. Kahl-Nieke, F. Beckmann, T. Donath, M. Epple. (*J. Biol. Inorg. Chemistry* 2005)
10. "The potential of powder metallurgy for the fabrication of biomaterials on the basis of nickel-titanium: A case study with a staple showing shape memory behaviour". L. Krone, J. Mentz, M. Bram, H.-P. Buchkremer, D. Stöver, M. Wagner, G. Eggeler, D. Christ, St. Reese, D. Bogdanski, M. Köller, S. A. Esenwein, G. Muhr, O. Prymak, M. Epple. (*Adv. Eng. Mater* 2005, 7, 613-619)
11. "The crystallization of fluoroapatite dumbbells with and without additives". O. Prymak, V. Sokolova, M. Epple. (*Cryst. Growth & Design* 2005, **accepted**)
12. "Synthesis and characterisation of DNA-containing calcium phosphate nanoparticles". V. Sokolova, O. Prymak, W. Meyer-Zaika, H. Cölfen, H. Rehage, A. Shukla, M. Epple. (*Dalton Trans.* 2005, **submitted**)

### 6.3 Poster und Vorträge

1. ESOMAT 2003: European Symposium on Martensitic Transformation and Shape-Memory, Cirencester (England), 17.-22.08.2003, D. Bogdanski, J. Choi, M. Epple, S.A. Esenwein, M. Köller, G. Muhr, V. Petzoldt, O. Prymak, K. Weinert, "Biocompatibility of calcium phosphate-coated and of geometrically structured Nickel-Titanium (NiTi) by *in-vitro* testing methods" (V)
2. ESOMAT 2003: European Symposium on Martensitic Transformation and Shape-Memory, Cirencester (England), 17.-22.08.2003, M. Epple, B. Kahl-Nieke, A. Klocke, O. Prymak, "Corrosion of orthodontic Nickel-Titanium (NiTi) wires in different fluids under constant mechanical stress" (P)
3. European Congress on Advanced Materials and Processes (EUROMAT 2003), Lausanne, Schweiz, 01.-05.09.2003, M. Epple, O. Prymak, D. Bogdanski, S. Esenwein, M. Köller, G. Muhr, "Coating of nickel-titanium shape memory alloy (NiTi) with calcium phosphate by plasma-spray and dip-coating" (V)
4. Deutsche Gesellschaft für Kieferorthopädie, 76. Wissenschaftliche Jahrestagung, München, 10.-14.09.2003, A. Klocke, O. Prymak, B. Kahl-Nieke, M. Epple, "Einfluß von Beschichtung auf Oberflächencharakteristik und mechanische Eigenschaften von superelastischen Vierkantbögen" (P)
5. 31st Conference of the German Society for Electron Microscopy, Dresden, 07.-12.09.2003, M. Epple, F. Beckmann, A. Klocke, O. Prymak, C. Schiller, D. Tadic, "Electron microscopy and 3D microtomography of biominerals and biomaterials" (V, invited)
6. 34th Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunologie, Berlin, 24.-27.09.2003, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Epple, G. Muhr, M. Köller, "Immune response of human leukocytes towards implant surfaces: in vitro screening of biocompatibility" (V)
7. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, Berlin, 11.-14.11.2003, D. Bogdanski, M. Köller, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Epple, G. Muhr, "Optimierung der Biokompatibilität durch Oberflächenmodifikation der Calciumphosphat-Schichten auf Ni-Ti-Formgedächtnislegierungen" (V)
8. 4. Tagung des DVM-Arbeitskreises "Biowerkstoffe", Köln, 26.-27.03.2004, M. Epple, O. Prymak, D. Bogdanski, M. Köller, G. Muhr, S. Esenwein, "Die chemische Struktur von Calciumphosphat-beschichteten Formgedächtnislegierungen (NiTi) und die biologische Antwort in der Zellkultur" (V)
9. 7th World Biomaterials Congress, Sidney, 17.-22.05.2004, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Epple, G. Muhr, M. Köller, "Activation of leukocytes at dip-coated calcium phosphate layers on shape memory alloys" (P)
10. International conference on biocompatible shape memory materials and new techniques in medicine, Tomsk, Russland, 17.-19.05.2004, O. Prymak, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, M. Köller, G. Muhr, M. Epple, "Coating of nickel-titanium alloys with calcium phosphate by dip-coating and plasma-spraying" (V)
11. International conference on biocompatible shape memory materials and new techniques in medicine, Tomsk, Russland, 17.-19.05.2004, O. Prymak, M. Assad, F. Beckmann, T. Donath, M. Epple, "Synchrotron microtomographic investigation of a porous NiTi-alloy (Actipore®)" (P)
12. International conference on biocompatible shape memory materials and new techniques in medicine, Tomsk, Russland, 17.-19.05.2004, O. Prymak, A. Klocke, B. Kahl-Nieke, M. Epple, "Fatigue of orthodontic Nickel-Titanium (NiTi) wires in different fluids under constant mechanical stress" (V)



13. Internationale Biomechanik- und Biomaterial-Tage, München, 16-17.07.2004, D. Bogdanski, D., S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Eppele, G. Muhr, M. Köller, "Aktivierung von humanen Leukozyten an Calciumphosphat-Beschichtungen auf Ni-Ti-Formgedächtnislegierungen". (V)
14. BMT 2004, 38. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik e.V. (DGBMT), Ilmenau, 22.-24.09.2004, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Eppele, G. Muhr, M. Köller, "Release of leucocyte mediators after contact to coated and noncoated NiTi-SMA" (V)
15. European Conference on Shape Memory and Superelastic Technology (SMST), Baden-Baden, 03.-07.10.2004, L. Krone, J. Mentz, M. Bram, H. P. Buchkremer, D. Stöver, M. Eppele, O. Prymak, S. A. Esenwein, "NiTi shape memory alloy parts produced by metal injection moulding" (V)
16. European Conference on Shape Memory and Superelastic Technology (SMST), Baden-Baden, 03.-07.10.2004, M. Eppele, O. Prymak, D. Bogdanski, M. Köller, G. Muhr, S. A. Esenwein, "Coating of NiTi with calcium phosphate by solution dip-coating and high-temperature plasma-spraying for biomedical application" (P)
17. European Congress on Advanced Materials and Processes (EUROMAT 2003), Lausanne, Schweiz, 01.-05.09.2003, M. Eppele, O. Prymak, D. Bogdanski, S. Esenwein, M. Köller, G. Muhr, "Coating of nickel-titanium shape memory alloy (NiTi) with calcium phosphate by plasma-spray and dip-coating" (V).
18. 7th Symposium "Biomaterials and Biomechanics: Fundamentals and Clinical Applications", Essen, 06.-08.10.2004, O. Prymak, D. Bogdanski, M. Köller, S.A. Esenwein, G. Muhr, M. Eppele, "Coating of nickel-titanium shape-memory alloys with calcium phosphate by plasma-spraying" (P)
19. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, Berlin, 19.-22.10.2004, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Eppele, G. Muhr, M. Köller, "Inhibition der PMN-Apoptose nach Adhärenz an Calciumphosphat-beschichteter Nickel-Titan-Legierung: Die Rolle anti-apoptotischer Cytokine" (V)
20. XVIIIth Aachen Colloquium on Biomaterials, Aachen, 15.-16.03.2005, L. Krone, J. Mentz, M. Bram, H.P. Buchkremer, D. Stöver, M. Wagner, G. Eggeler, D. Christ, S. Reese, D. Bogdanski, M. Köller, S.A. Esenwein, G. Muhr, O. Prymak, M. Eppele, "The potential of powder metallurgy for the fabrication of biomaterials on the basis of nickel-titanium: A case study with a staple showing shape memory behaviour " (P)
21. 16. Ulm-Freiburger Kalorimetrietage, Freiberg/Sachsen, 16.-18.03.2005, M. Eppele, O. Prymak, T. Welzel, "Thermische Analyse zur strukturellen Untersuchung von Biomaterialien" (V)
22. BMT 2005, 39. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik e.V. (DGBMT), Nürnberg, 14.-17.09.2005, S.A. Esenwein, D. Bogdanski, O. Prymak, M. Eppele, G. Muhr, M. Köller, "Surface coating of NiTi shape memory alloys with calcium phosphates by dip-coating or plasma-spraying – biological characterization using in vitro testing methods " (V)
23. 8th International Symposium Biomaterials and Biomechanics: Fundamentals and Clinical Applications, 21.-23.09.2005, Essen, D. Bogdanski, T.A. Schildhauer, M. Eppele, O. Prymak, M. Bram, G. Muhr, M. Köller, "Generation of soluble mediators and periimplant cell activation after adherence of leukocytes to biomaterials" (V)
24. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Würzburg, 07.-08.10.2005, L. Krone, J. Mentz, M. Bram, H.P. Buchkremer, D. Stöver, M. Wagner, G. Eggeler, D. Christ, S. Reese, D. Bogdanski, M. Köller, S.A. Esenwein, G. Muhr, O. Prymak, M. Eppele, "The potential of powder metallurgy for the fabrication of biomaterials on the basis of nickel-titanium: A case study with a staple showing shape memory behaviour" (P)

25. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Würzburg, 07.-08.10.2005, T. Peitsch, O. Prymak, A. Klocke, B. Kahl-Nieke, M. Epple, "Ermüdungsbeständigkeit und Nickelfreisetzung von orthodontischen Drähten auf NiTi-Basis (Nitinol®)" (V)
26. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, 19.-22.10.2005, Berlin, D. Bogdanski, S.A. Esenwein, O. Prymak, M. Epple, M. Köller, "Aktivierung humaner Leukozyten auf Calciumphosphatschichten: Die Rolle von Adhäsionsmolekülen" (V)
27. 3rd International Symposium on Apatite and Correlated Biomaterials, 25.10.-28.10.2005, Wuhan, China, S.A. Esenwein, D. Bogdanski, O. Prymak, M. Epple, G. Muhr, M. Köller, "Surface coating of NiTi shape memory alloys with calcium phosphates by dip-coating or plasma-spraying: biological characterization using in vitro testing methods" (V)

## 6.4 Lebenslauf

*Name:* Oleg Prymak  
*Geburtstag:* 11. Oktober 1978  
*Geburtsort:* Kharkiv, Ukraine  
*Familienstand:* verheiratet  
*Volksangehörigkeit:* Ukrainisch

---

### **BILDUNG:**

seit 01.10.2004 -	Doktorand an der Universität Duisburg-Essen, Campus Essen, Fachbereich Chemie (Prof. Dr. M. Eppler) Titel der <i>Dissertation</i> „Untersuchungen zu Biomaterialien und Biomineralien auf der Basis von Nickel-Titan-Legierungen und Calciumphosphaten“ (Forschungsprojekt SFB459)
16.05.2003 – 30.09.2004	Doktorand an der Ruhr-Universität Bochum, Fakultät für Chemie (Prof. Dr. M. Eppler)
2001 - Juli 2002:	W.N. Karasin Nationale Universität Kharkiv, Ukraine, Ph. D. Student/ Aspirant, Lehrstuhl für Festkörperphysik <i>Spezialisierung:</i> Materialkunde / Biomaterialien. <i>Projekt:</i> “Untersuchung von Pulversynthesereaktionen und zweiphasigen Keramisierungsmechanismen im System Hydroxylapatit-Tricalciumphosphat”.
1996 - 2001:	W.N. Karasin Nationale Universität Kharkiv, Ukraine Diplom mit Auszeichnung. Fach: Physik. <i>Spezialisierung:</i> Materialkunde / Biomaterialien. <i>Projekt:</i> “Herstellung und physikalische Eigenschaften einer zweiphasigen Calciumphosphatkeramik”.
1986 - 1996:	Mittelschule Nr. 94, Kharkiv, Ukraine. Mittelnote 4.85 bei maximal 5. Belobigungsschreiben für spezielle Leistungen in Physik, Mathematik.

### **ARBEITSERFAHRUNG:**

seit 01.10.2003 -	Universität Duisburg-Essen, Campus Essen, Institut für Anorganische Chemie, Arbeitskreis Prof. Dr. M. Eppler
01.07.2002 - 01.10.2003	Ruhr-Universität Bochum, Anorganische Chemie, Arbeitskreis Prof. Dr. M. Eppler
01.07.2002 - 31.08.2005	Beschäftigung als wissenschaftlicher Mitarbeiter (BAT IIa/2, SFB 459 „Formgedächtnistechnik“) an der Ruhr-Universität Bochum
August 2001 - Juni 2002	W.N. Karasin Nationale Universität Kharkiv, Lehrstuhl der Festkörperphysik (Teilzeitarbeit) Oberlaborant (Hochschullehrerassistent) Studenten des 4. Jahres. Röntgenpraktikum. Erfahrung mit Röntgenanlagen, Elektronograf, elektronisches Mikroskop.

Hiermit erkläre ich, dass ich bisher keine weiteren Promotions-Versuche unternommen habe.

Essen 21.07.05

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.